SÉRIE A, N° 986
N· D'ORDRE
1011

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

(Mention Sciences)

PAR

Suzanne LARNO-VACHERON

PREMIÈRE THÈSE

Contribution à l'étude de l'adrénaline et de la noradrénaline plasmatiques Dosage et applications biologiques

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 8 Juin 1962 devant la Commission d'examen

Mlle LE BRETON — Président
M. BENOIT, Mlle BEAUVALLET — Examinateurs

SÉRIE A, N° 986
N· D'ORDRE
1011

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

(Mention Sciences)

PAR

Suzanne LARNO-VACHERON

PREMIÈRE THÈSE

Contribution à l'étude de l'adrénaline et de la noradrénaline plasmatiques Dosage et applications biologiques

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 8 Juin 1962 devant la Commission d'examen

Mlle LE BRETON — Président
M. BENOIT, Mlle BEAUVALLET — Examinateurs

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen ..... ZAMANSKY

G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure
DE BROGLIE	T	Théories physiques
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées
GRASSE	T	Evolution des êtres organisés
PREVOST	T	Chimie organique
CHAUDRON	T	Chimie appliquée
WYART	T	Minéralogie et Cristal.
TEISSIER	T	Zoologie
MANGENOT	T	Biologie Vég. (Orsay)
AUGER	T	Physique quantique et Relativité
MONNIER	T	Physiologie Générale
PIVETEAU	T	Paléontologie
ROCARD	T	Physique (E.N.S.)
CARTAN	T	Mathématiques (E.N.S.)
LAFFITTE	T	Chimie générale
FAVARD	T	Géométrie supérieure
COULOMB	T	Physique du Globe
Mlle COUSIN	T	Biologie Animale (SPCN)
CHRETIEN	T	Chimie minérale
DRACH	T	Zoologie
KASTLER	T	Physique (E.N.S.)
EPHRUSSI	T	Génétique
RIVIERE	T	Géologie SPCN et sédim.
GAUTHERET	T	Biologie Vég. (P.C.B.)
LUCAS R.	T	Recherches Physiques
THOMAS A.	T	Biologie cellulaire
ARNULF	T	Optique appliquée.
MORAND	T	Physique Enseignement
SOLEILLET	T	Physique (P.C.B.)
FORTIER	T	Mécanique exp. des Fluides
DANJON	T	Astronomie
PETIT	T	Biologie maritime
QUENEY	T	Météorologie et dynamique atmosphérique
GALLIEN	T	Embryologie
EICHHORN	T	Botanique
DE CUGNAC	T	Biologie Végétale (SPCN)
Mlle CAUCHOIS	T	Chimie Physique
THELLIER	T	Physique du Globe
L'HERITIER	T	Biologie Générale (Orsay)
GRIVET	T	Radioélectricité (Orsay)
PONCIN	T	Mécanique Générale
DUBREIL	T	Arithmétique et théorie des Nombres
QUELET	T	Chimie Organique
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée
CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculaire
CUVILLIER	T	Micropaléontologie
JUNG	T	Pétrographie
TRILLAT	T	Microscopie et diffraction électronique
WIEMANN	T	Chimie organique et struc.
JACQUINOT	T	Spectroscopie et physique céleste (Orsay)
VASSY	T	Physique de l'atmosphère
DESTOUCHES	T	Théories Physiques
AMIEL	T	Chimie générale
HOCART	T	Minéralogie et Cristallog.
J.P. MATHIEU	T	Physique (Optique)
COUTEAUX	T	Biologie animale (P.C.B.)
MAY	T	Zoologie (Orsay)
CHOQUET	T	Théorie des fonctions et Topologie
FELDMANN	T	Biologie Végétale marine
GUINIER	T	Physique des Solides (Orsay)
JOST	T	Physiologie comparée
FORTET	T	Calcul des Probabilités et Physique mathématique
SCHWARTZ	T	Calcul diff. et Intégral
CHOUARD	T	Physiologie Végétale
MALAVARD	T	Aviation (Techn. Aéronaut.)
BIELOT	T	Calcul diff. et intégral
NORMANT	T	Synthèse organique générale
BENARD	T	Chimie Minérale
BUVAT	T	Botanique (E.N.S.)
DUGUE	T	Statistiques Mathématiques
SOULAIRAC	T	Psychophysiologie
ULRICH	T	Physiologie Végétale
MARECHAL	T	Optique théorique et Appl.
KIRRMANN	T	Théories Chimiques
CHADEFAUD	T	Botanique
Mlle LE BRETON	T	Physiologie de la nutri.
SALEM	T	Mathématiques générales
LELONG	T	Applic. de l'analyse à la géométrie
DEVILLERS	T	Anatomie et Histologie Comp.
EHRESMANN	T	Topologie Algébrique
FRANCON	T	Physique (S.P.C.N.)
GLANGEAUD	T	Géographie phys. et Géologie dynamique
GODEMENT	T	Mathématiques (M.P.C.)
PISOT	T	Tech. Mathém. de la Phys.
ROCH	T	Géologie
SCHATZMAN	T	Astrophysique
TERMIER	T	Paléontologie stratig.
ZAMANSKY	T	Mathématiques générales
LENNUIER	T	Physique (M.G.P.)
RIZET	T	Génétique (Orsay)
ROUTHIER	T	Géologie appliquée
Mme TONNELAT	T	Physique Théorique
DIXMIER	T	Mathématiques (M.P.C.)
SOUCHAY	T	Chimie générale
AIGRAIN	T	Electrotechnique géné.
BRUSSET	T	Chimie systématique
M. LEVY	T	Physique théorique des hautes énergies (Orsay)
Mme CHAIX	T	Chimie biologique
Mme HUREL-PY		Biologie Végétale (PCB)
PIAUX	T	Chimie (M.P.C.)
BRUN	T	Mécan. théorique des Fluides
LEDERER	T	Chimie biologique
Mme DUBREIL	T	Mathém. (Agrégation)
Mme LELONG	T	Mathématiques (E.N.S.)
BELLAIR	T	Géologie (S.P.C.N.)
COTTE	T	Physique électricité
DUBOIS J.E.	T	Chimie organique
LAMOTTE	T	Zoologie (E.N.S.)
MICHEL A.	T	Chimie Minérale (Orsay)
OLMER	T	Energétique générale
ROUAULT	T	Electricité (Orsay)
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée
BARCHEWITZ	T	Chimie Physique
BROSSEL	T	Physique atomique
BUSER	T	Physiologie comparée
CAMUS	T	Physiologie Vég. BMPV
CASTAING	T	Physique (Orsay)
CURIEN	T	Minéralo. et Cristallog.
MOYSE	T	Physiologie Végé. (Orsay)
NOIROT	T	Evolution des Etres Org.
PANNETIER	T	Chimie générale (Orsay)
POSSOMPES	T	Zoologie
PULLMANN	T	Chimie théorique
TEILLAC	T	Physique Nucl. et Radioactivité
TONNELAT	T	Biologie Physico-chim.
VILLE	T	Econométrie
WILLEMART	T	Chimie (P.C.B.)
DODE	T	Chimie (Orsay)
FREYMANN	T	Recherches Physiques
GUINOCHET	T	Biol. Vég. SPCN (Orsay)
ROLLET	T	Chimie (P.C.B.)
Mlle JOSIEN	T	Chimie S.P.C.N.
CHEVALLEY	T	Géométrie algébrique et théorie des groupes
ARNOULT	T	Electronique (Orsay)
CHAPELLE	T	Physique (Orsay)
DELANGE	T	Mathématiques (Orsay)
DENY	T	Mathématiques Géné. Orsay
GERMAIN	T	Mécan. théor. des fluides
LUCAS G.	T	Géologie
ALLARD	T	Chimie Physique
BERTHELOT	T	Phys. Fondamentale des Hautes Energies (Orsay)
BRICART	T	Météorologie et phys. de l'Atmosphère.
Mme ALBE-FESSARD	T	Psychophysiologie
FRIEDEL	T	Physique des Solides (Ors)
M. JULIA		Etudes des Moléculaires naturelles complexes
LENDER	T	Biol. Animale (SPCN) Orsay
MAGAT		Physico-chimie des radio-éléments
Mlle QUINTIN	T	Electrochimie
MONOD	T	Chimie du métabolisme
BENOIT	T	Physiol. Anim. (Orsay)
DE POSSEL	T	Analyse numérique
CHARLOT	T	Chimie analytique
HAISSINSKY	T	Radiochimie
LEMEE	T	Physiol. Vég. BMPV (Orsay)
GUERIN	T	Chimie M.P.C. (Orsay)
CHATELET M.	T	Chimie (P.C.B.)
JEAN	T	Physique Nucléaire (Orsay)
MATTLER	T	Physique S.P.C.N.
MICHEL L.		Phys. Théor. des Htes Energies (Orsay)
BERGERARD	T	Zoologie (Orsay)
BERTEIN	T	Electronique (Orsay)
BOUISSIERES		Chimie des Radioéléments (Orsay)
Mme COUTURE	T	Thermodynamique et Méc. Physique
ELLENBERGER	T	Géologie appli. s/le terr.
FRANC		Biol. Animale (P.C.B.)
SCHNELL		Botanique tropicale (Orsay)
STOLKOWSKI		Physiologie générale
ACHER		Chimie Biol. (Orsay)
BAUDOIN		Biologie animale P.C.B.
BEAUMONT		Biologie animale SPCN
BLAMONT	T	Géophysique Ionosphère
BOURREAU		Botanique
CURIE D.		Physique (M.G.P.)
DURAND-DELGA		Géologie
FREON	T	Chimie organique (Orsay)
HELLER	T	Physiologie végétale
TORTRAT	T	Calcul des Probabilités
CAILLEUX		Géologie (S.P.C.N.)
MAGNAN	T	Physique (S.P.C.N.)
DAUDEL	T	Mécanique ondulatoire appl. à la Chim. Théor. et à la Phys. Nucléaire
Mlle FOURCHOY		Biol. Végétale (SPCN)
Mme CHOQUET-BRUHAT	T	Méc. Analytique et Méc. céleste
Mlle VEIL		Physiologie Générale
LWOFF	T	Microbiologie
SIESTRUNCK	T	Mécan. Phys. et Expérim.
LACOMBE	T	Métallur. des métaux Nucl.
BROCHARD	T	Physique P.C.B. (Orsay)
CABANNES	T	Mécanique générale
LESIEUR	T	Mathématiques MPC (Orsay)
MAZET	T	Mécanique générale (Orsay)
CAIRE		Géographie phys. et Géol. Dynamique
COMOLET	T	Mécanique des Fluides
CORABŒUF		Physiologie Animale
DELLOUE		Physique de l'exosphère
GORENFLOT		Biologie Végétale (Orsay)
HOUILLON		Biologie Animale P.C.B.
JULLIEN J.		Chimie P.C.B.
MALGRANGE	T	Tech. Math. de la Phys.
OLIVIER		Antropologie
NOZERAN	T	Botanique II (Orsay)
BLANC-LAPIERRE		Physique ENS. (Orsay)
CHEVAUGEON	T	Botanique (Orsay)
KAHANE	T	Mathématiques (Orsay)
SAMUEL	T	Mathématiques ENS féminine
KOURGANOFF	T	Astronomie (Orsay)
THIRY	T	Mécanique céleste

Secrétaire Général ..... R. POULLAIN

AVANT-PROPOS

Qu'il nous soit permis d'exprimer toute notre reconnaissance à Monsieur le Professeur Hazard. Ses encouragements et ses conseils nous ont été prodigués au cours de ce travail qu'il a bien voulu nous permettre de réaliser. Qu'il trouve ici l'expression de notre vive et respectueuse gratitude pour la sollicitude dont il a fait preuve à notre égard depuis douze ans.

Mademoiselle le Professeur Le Breton a bien voulu s'intéresser à nos recherches et nous a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de thèse; qu'elle soit assurée de notre très vive reconnaissance.

Nous tenons aussi à exprimer notre gratitude à Mademoiselle Quintin pour les conseils qu'elle nous a si aimablement donnés, ainsi qu'à Monsieur le Professeur Benoit qui a bien voulu accepter de faire partie du jury.

Mademoiselle Beauvallet s'est toujours vivement intéressée à ce travail; elle nous a prodigué conseils et encouragements et nous l'en remercions très sincèrement.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance à tous ceux qui, dans le laboratoire nous ont aidée dans nos recherches. Que Monsieur le Professeur Cheymol trouve ici l'expression de notre gratitude pour l'intérêt qu'il n'a cessé de nous témoigner.

Enfin, nous remercions vivement Monsieur Setton ainsi que les ingénieurs des Etablissements Jobin et Yvon de tous les conseils qu'ils nous ont si aimablement donnés.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538117_0021

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ADRÉNALINE ET DE LA NORADRÉNALINE PLASMATIQUES. DOSAGE ET APPLICATIONS BIOLOGIQUES

INTRODUCTION

Dans les conditions normales, la médullo-surrénale déverse dans le sang de très petites quantités d'adrénaline et de noradrénaline.

L'appréciation de ces deux amines hypertensives dans la circulation générale, par différents moyens de dosages, a donné lieu à de nombreux travaux.

En particulier, les méthodes physicochimiques ont été expérimentées par beaucoup de chercheurs et les résultats publiés varient souvent d'un auteur à l'autre. Deux méthodes ont suscité un grand intérêt; ce sont celles décrites par Lund [111], [112], [113], [114] et par Weil-Malherbe et Bone [181], [182].

A l'aide de la première, les concentrations dans le sérum veineux de sujets humains normaux furent estimées tout d'abord à moins de 1 µg d'adrénaline + noradrénaline par litre (Lund [116]). Puis les protagonistes de cette méthode ont donné pour le plasma veineux périphérique de sujets humains : 0,30 ± 0,07 µg de noradrénaline et 0,06 ± 0,05 µg d'adrénaline par litre de plasma (Cohen et Goldenberg [37], [38]); 0,34 ± 0,15 µg de noradrénaline par litre et 0,01 ± 0,07 µg d'adrénaline (Price et Price [142]) (Valk et Price [168]).

Avec la seconde technique, des concentrations moyennes dans le plasma humain normal de 8 µg 7 de noradrénaline par litre et 2,1 µg d'adrénaline par litre ont tout d'abord été relatées (Weil-Malherbe et Bone [182]); mais la teneur moyenne de noradrénaline signalée ultérieurement a été moindre (Weil-Malherbe et Bone [183]).

Les valeurs moyennes données par d'autres auteurs utilisant des variantes de cette dernière méthode sont 2,1 ± 1,3 µg de noradrénaline et 0,4 ± 0,2 µg d'adrénaline par litre de sang veineux humain (Aronow, Howard et Wolff [5]) et 3,9 ± 1,7 µg de noradrénaline et 0,14 ± 0,2 µg d'adrénaline par litre de plasma (Manger et coll. [122]).

Nous constatons que tous ces chiffres varient surtout d'une méthode à l'autre mais aussi, souvent pour une même méthode, avec les expérimentateurs. Ceci tient sans doute au fait que des modifications personnelles a un même procédé sont apportées par chacun.

Pour cette raison, nous nous sommes efforcée dans ce travail d'éprouver puis de retenir une méthode à la fois différentielle, sensible et assez spécifique des deux hormones surrénaliennes. Puis nous l'avons appliquée à l'examen de différents problèmes physiologiques en essayant de vérifier nos résultats biologiquement quand cela a été possible.

I. — DETERMINATIONS FLUORIMETRIQUES DES PETITES QUANTITES D'ADRENALINE ET DE NORADRENALINE EN SOLUTIONS AQUEUSES PURES

A. — Travaux antérieurs

Paget et Leblond [131], [132] furent les premiers à signaler la fluorescence de l'adrénaline en milieu fortement alcalin. Quelques années plus tard, Gaddum et Schild [66] constataient que, dans le même milieu, la noradrénaline présentait aussi une fluorescence, celle-ci étant cependant toujours beaucoup plus faible que celle de l'adrénaline (1 à 2 % seulement).

Les chercheurs tentèrent alors d'utiliser le procédé Paget pour déterminer les teneurs en adrénaline et noradrénaline des tissus. Il se montra loin d'être

satisfaisant, la fluorescence ainsi émise étant très instable (Porat [141]).

A la mesure de la fluorescence de ces deux amines en milieu alcalin, totalement abandonnée actuellement, s'est substituée celle de leurs dérivés obtenus par oxydation : il y a alors cyclisation de l'adrénaline et de la noradrénaline en adrénochrome et noradrénochrome selon le mécanisme qui a donné lieu à de nombreux travaux (Green et Richter [72]), (Bacq et coll. [11], [12]), (Chaix et coll. [32], [33], [34]), (Gautheron et Chaix [67]), (Drevon et Stupfel [43]), (Beauvillain et Sarradin [18]) et surtout Hardley-Mason [75], [76]).

L'adrénochrome a été obtenu à l'état cristallisé et identifié par Green et Richter en 1937. La noradrénaline réagirait de la même façon que l'adrénaline et donnerait un noradrénochrome (Beaudet [17]), substance qui n'a jusqu'à présent pas été isolée, mais à laquelle on attribue par analogie la même structure qu'à l'adrénochrome.

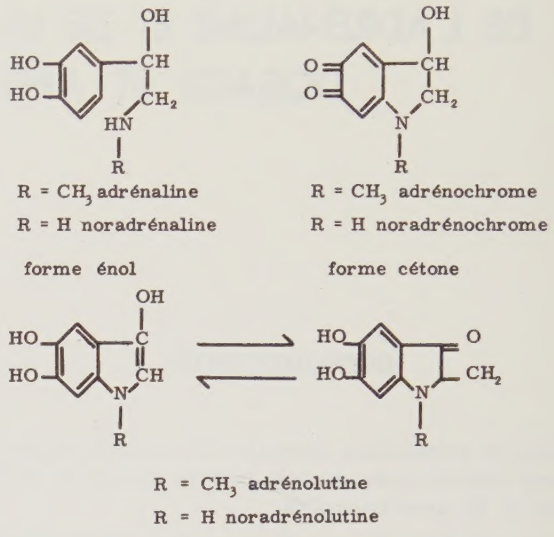
Dans le but d'obtenir un dérivé fluorescent, l'oxydation est suivie, soit d'un passage en milieu alcalin (méthode de Lund), soit d'une condensation avec l'éthylène diamine (méthode de Weil-Malherbe et Bone). Nous décrirons d'abord brièvement la seconde de ces méthodes, ayant utilisé dans toutes les expériences dont nous donnons ici les résultats, une variante de la méthode de Lund.

1. — Méthode par condensation a l'éthylène diamine (Weil-Malherbe et Bone)

Par leurs deux fonctions phénol en ortho, l'adrénaline et la noradrénaline, ainsi que leurs produits d'oxydation, sont capables de se condenser, à chaud, à l'éthylène diamine (Natelson, Lugovoy et Pincus [130]). Les produits stables ainsi obtenus sont fluorescents. De plus ils sont solubles dans certains solvants, tels que l'isobutanol, ce qui permet de les extraire des milieux aqueux dans lesquels on les a formés et de les concentrer sous un faible volume. Les intensités de fluorescence des produits de condensation de l'adrénaline et de la noradrénaline ne sont pas les mêmes. On les mesure à deux longueurs d'onde maximales en utilisant soit des monochromateurs, soit des filtres de couleur jaune et bleue permettant de travailler avec des bandes passantes très étroites.

2. — Méthode dite trihydroxyindole (Lund)

L'action d'une base forte sur les solutions d'adrénochrome donne naissance à une substance fluorescente. La formation et la nature du composé ainsi produit ont été l'objet de nombreuses publications (Utevski [167]), (Jorgensen [101]), (West [188]). C'est en réalité Ehrlen [44] qui l'identifia pour la première fois au trihydroxy-3, 5, 6 N-méthylindole ; les mêmes observations furent faites presque au même moment par Harley-Mason [75], [76], Fisher [56] Fischer et coll. [57], [58], [59]. C'est, ainsi que le montrent les formules ci-dessous, un produit d'isomérisation de l'adrénochrome. Lund qui, en 1950 reconnut la formation du dérivé de la noradrénaline, donna à ces deux corps les noms d'adrénolutine et noradrénolutine, noms qui leur ont été conservés par la suite.



Le principe de la méthode de Lund est le suivant

Les catécholamines sont adsorbées quantitativement par de l'oxyde d'alumine à *p*H 8,5. Après élution avec l'acide acétique 0,2 N, le *p*H de la solution est de 4 environ. Après avoir ajusté à 3 une première partie aliquote de l'éluat par addition de HCl 0,2 N, on ajoute un oxydant, ici MnO_2, qui en 60 secondes provoque l'oxydation complète de l'adrénaline tandis qu'environ 5 pour cent seulement de la noradrénaline sont transformés en noradrénochrome.

Par addition de 0,8 M Na_2HPO_4 à une deuxième partie aliquote de l'éluat, le *p*H est amené à 6,5. Le contact avec MnO_2 pendant 20 secondes oxyde complètement l'adrénaline et la noradrénaline.

La transformation en lutines de ces dérivés oxydés et leur stabilisation se fait à l'aide d'une base forte (NaOH) et d'acide ascorbique. L'intensité de la fluorescence pourra alors être mesurée. La différence entre les fluorescences des échantillons oxydés à *p*H 3 et à *p*H 6,5 permet la détermination des quantités respectives d'adrénaline et de noradrénaline.

La méthode de Lund a été essayée et utilisée par de nombreux auteurs, et quelques modifications ont naturellement été apportées.

C'est ainsi que l'on a remplacé le bioxyde de manganèse par d'autres agents chimiques oxydants.

a) *L'iode*

On sait en effet depuis les travaux de Green et

Richter [72] que sous son influence, la transformation de l'adrénaline se fait en deux stades, le premier consistant en une oxydation à l'état de quinone des deux fonctions phénoliques, le deuxième étant la formation d'adrénochrome par cyclisation. Il y aurait de la même façon formation de noradrénochrome.

Les travaux de Euler et Hamberg [51] ont montré qu'à *p*H 4 la formation d'adrénochrome après addition d'iode 0,1 N est complète après 1 mn 30, tandis que pendant ce temps 10 pour cent de la noradrénaline ont seulement été oxydés. A *p*H 6, l'oxydation est totale après 3 mn pour les deux amines. L'excès d'iode est alors enlevé à l'aide d'hyposulfite de sodium.

b) *Le ferricyanure de potassium.*

Euler et Floding [50] ont montré qu'à *pH* 6 une solution à 0,25 pour cent de $FeCn_6K_4$ oxyde en 2 mn les deux catécholamines. A *p*H 3,5 le processus d'oxydation se fait très lentement, aussi bien pour l'adrénaline que pour la noradrénaline, mais l'addition de sulfate de zinc à 0,5 pour cent provoque une complète oxydation de l'adrénaline en 3 mn, tandis que, pendant le même temps, 5 pour cent seulement de la noradrénaline sont oxydés.

Le changement de l'oxydant n'est pas la seule modification que les nombreux auteurs aient apporté à la méthode de Lund. Dans le chapitre suivant, nous exposons les recherches que nous avons personnellement faites avant de choisir la technique que nous avons définitivement adoptée.

B. — **Travaux personnels**

1. — Choix de la technique

a. — *Choix de l'agent oxydant*

α) Ferricyanure de potassium

Von Euler et Floding utilisent ce sel à la concentration de 0,25 pour cent; ils ajoutent 0,1 ml de cette solution à la prise d'essai et laissent agir 2 minutes.

Nous avons recherché si cette concentration donnait les intensités de fluorescence maximales et avons donc repris les expériences des auteurs. Les 0,1 ml de la solution à 0,25 pour cent ajoutés nous ont semblé être un grand excès au moins pour les faibles quantités d'adrénaline (de 0,01 µg à 0,50 µg) que nous avions à doser. En utilisant le même volume d'une solution diluée 10 fois (0,025 pour cent) les intensités de fluorescence se sont en effet montrées légèrement supérieures; au-dessus ou au-dessous de cette dilution elles s'abaissent.

Par contre, la concentration de ferricyanure préconisée par les auteurs est celle qui convient le mieux pour le dosage de la noradrénaline. En effet si on utilise 0,1 ml de la solution diluée 10 fois, les intensités de fluorescence sont cette fois nettement diminuées.

Ceci tendrait à confirmer que la noradrénaline est plus difficilement oxydable que l'adrénaline.

Le temps de contact de l'oxydant avec la solution (1, 2 ou 3 minutes) ne semble pas avoir d'influence sur les résultats fluorimétriques.

C'est en définitive la concentration indiquée par Euler qui semble la meilleure.

β) Bioxyde de manganèse

Nous avons eu recours au produit Merck (à 85-90 pour cent de MnO_2 en poudre) qui semble le meilleur. Suivant sa provenance on peut en effet observer de grandes différences dans les intensités de fluorescence (Jones-Blake [99], [100]).

Avec la poudre employée sans lavage préalable (0,1 g laissé en contact et agité avec la solution pendant 2 et 3 minutes) nous avons trouvé qu'à *p*H 6 l'intensité de la fluorescence de l'adrénolutine ainsi obtenue n'est qu'environ la moitié de celle qui est constatée après action du ferricyanure (0,1 ml à 0,25 pour cent).

Avec 0,1 g de MnO_2 lavé à l'acide acétique 1 N puis séché, l'oxydation est plus importante mais la fluorescence n'est encore que 75 à 85 pour cent de celle obtenue avec le ferricyanure.

Pour la détermination des taux de la noradrénaline, l'emploi du MnO_2 est encore moins satisfaisant car, même avec la poudre lavée à l'acide acétique, les intensités de fluorescence sont environ 50 pour cent de celles observées après action du ferricyanure.

γ) Iode

Après oxydation par l'iode de l'adrénaline et de la noradrénaline et formation de l'iodoadrénochrome et iodonoradrénochrome il est possible par addition du mélange soude-acide ascorbique de former les dérivés fluorescents. Shore et Olin [156] se servent d'ailleurs de ce procédé pour déterminer le taux de noradrénaline du cerveau.

Pour comparer les résultats donnés par cette méthode à ceux que nous avons obtenus avec le ferricyanure, nous avons utilisé une solution aqueuse d'iode 0,001 N préparée par dilution d'une solution mère 0,01 N contenant de l'iodure de potassium. Dans ces conditions nous avons remarqué, aussi bien pour l'adrénaline que pour la noradrénaline, utilisées en solutions dans l'eau bidistillée (le *p*H de la solution étant voisin de 6) que la fluorescence émise après addition des réactifs (0,1 ml d'I 0,001 N pendant 5 minutes puis 0,1 ml de $S_2O_3Na_2$ 0,001 N et enfin 0,5 ml du mélange soude-acide ascorbique) est sensiblement la même qu'après oxydation par le ferricyanure. Si cependant avant les réactifs on ajoute aux solutions dans l'eau bidistillée 0,5 ml de tampon *p*H 6 (mélange acétate de Na-acide acétique 1 M) comme nous serons

obligée de le faire avec les extraits de plasma, aucune fluorescence n'apparaît plus.

Il convient de signaler que les auteurs qui ont utilisé cet oxydant ont eu recours à une solution alcoolique d'iode; il est possible que l'iodure de potassium en présence de l'acétate tampon empêche la fluorescence.

δ) Conclusion

Nous avons donc retenu comme oxydant le ferricyanure de potassium à la concentration de 0,25 pour cent (Euler).

b. — *Influence du pH d'oxydation*

Von Euler et Floding préconisent la séparation des deux aminoalcools diphénoliques en se basant sur le fait qu'à *p*H 6 les deux amines sont totalement oxydées, tandis qu'à *p*H 3,5 *et* avec un catalyseur, l'adrénaline l'est pratiquement seule. Cela suppose deux séries de mesures sur deux parties aliquotes du même mélange, l'un recevant du tampon *p*H 3,5 et un catalyseur, l'autre uniquement du tampon 6.

Afin d'étudier l'influence du *p*H sur l'oxydation nous avons réalisé à l'aide de solutions d'acide acétique 1 M et d'acétate de soude 1 M, une série de systèmes tampons variant de *p*H 3,5 à *p*H 7.

Le tableau ci-dessous indique les différentes combinaisons que nous avons faites.

	$CH_3COOH + CH_3COONa$	
*p*H	1 M	1 M
3,5	9,3 ml	0,7 ml
4	7,5 ml	2,5 ml
4,5	5 ml	5 ml
5	2,5 ml	7,5 ml
6	0,5 ml	9,5 ml
7	0,1 ml	9,9 ml

L'oxydation est toujours faite avec le ferricyanure de potassium [50].

Avec la noradrénaline, la très faible émission de fluorescence qui apparaît lorsque sa transformation en noradrénochrome est pratiquée à *p*H 3,5 augmente rapidement à partir de *p*H 4 et est maximale et stationnaire de *p*H 5 à *p*H 7 (fig. 1).

Avec l'adrénaline nous avons observé, sans catalyseur, une intensité de fluorescence déjà notable quand l'oxydation a lieu à *p*H 3,5. La fluorescence augmente très vite pour atteindre son maximum aux p*H* 4,5 et 5 et reste ensuite stationnaire (fig. 1). En présence de *catalyseur* (SO_4Zn 0,1 ml à 0,5 pour cent pendant 3 mn) à *p*H 3,5 l'addition de ferricyanure conduit généralement mais cependant pas toujours au maximum d'intensité de fluorescence.

Vouloir différencier les deux aminoalcools par oxydation à *p*H 3,5 avec catalyseur (adrénaline seule) et à *p*H 6 sans catalyseur (adrénaline et noradrénaline) ne paraît donc pas être entièrement satisfaisant. C'est

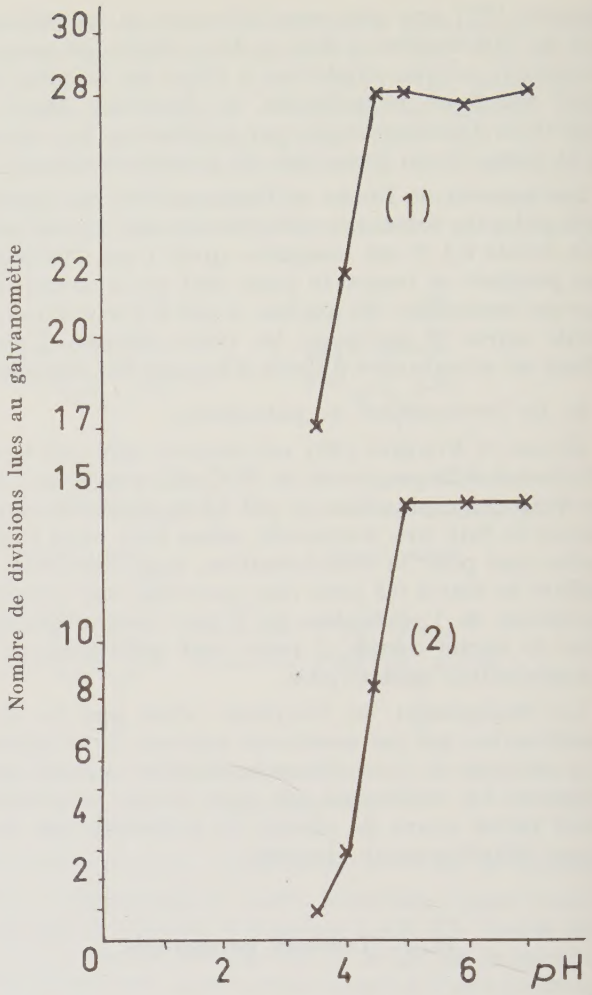


Fig. 1. — Influence du *p*H d'oxydation sur les intensités de fluorescence.
En (1) adrénaline 0,1 µg λ 436 mµ,
en (2) noradrénaline DL 0,1 µg λ 406 mµ.

pourquoi toutes nos expériences ont été faites au seul *p*H 6, l'examen des spectres de fluorescence à différentes longueurs d'onde nous permettant ainsi que nous le verrons plus loin, de les différencier. La plupart des auteurs opèrent d'ailleurs actuellement de cette façon.

c. — *Influence des quantités respectives de soude et d'acide ascorbique*

Après avoir réalisé l'oxydation en *chromes* par le ferricyanure Roston [147] traite deux parties aliquotes de la solution mixte des deux aminoalcools oxydés; l'une d'abord par de la soude, ajoutant 30 secondes après, 0,25 ml d'une solution d'acide ascorbique à 0,8 pour cent pour déterminer le taux de la noradrénaline, l'autre par de la soude additionnée d'une plus grande quantité d'acide ascorbique (4 ml de la même solution) pour l'estimation du taux d'adrénaline.

Nous avons nous-même préparé des solutions de

soude à 5, 10, 15 et 20 pour cent et avons effectué des mélanges extemporanés de 0,9 ml de solution sodique de chacune de ces concentrations avec 0,1 ml d'une solution d'acide ascorbique de 2, 1, 0,5 et enfin 0,25 pour cent ; 0,5 ml de mélange ont été ajoutés à chaque échantillon. Toutes les autres conditions opératoires précédemment citées étant maintenues constantes, nous avons fait les observations suivantes.

α) Pour 1 ml de solution contenant 0,1 µg d'adrénaline la formation du dérivé fluorescent est maximale avec 0,5 ml du mélange formé de 0,9 ml de soude à 20 pour cent et 0,1 ml d'acide ascorbique à 2 pour cent. Les résultats restent les mêmes quand 0,8 ml de NaOH à 20 pour cent sont ajoutés à 0,2 ml d'acide ascorbique à 2 pour cent. Ils deviennent moins bons quand on abaisse la concentration de la solution ascorbique (1 pour cent) et même instables quand 0,1 ml d'acide ascorbique à 0.5 pour cent est ajouté.

β) Pour 1 ml de solution contenant 0,5 µg de noradrénaline la fluorescence se manifeste très nettement après addition au milieu d'oxydation de 0,5 ml du mélange, 0,9 ml NaOH à 20 pour cent et 0,1 ml d'acide ascorbique à 2 pour cent, mais le maximum d'intensité est atteint généralement avec les solutions moins concentrées d'acide ascorbique : 0,1 ml à 1 pour cent et 0,1 ml à 0,5 pour cent pour toujours 0,9 ml NaOH à 20 pour cent. Au-dessous de ces concentrations (0,1 ml à 0,25 pour cent) les lectures sont instables, diminuant avec le temps.

La stabilisation de la noradrénolutine est donc favorisée par moins d'acide ascorbique qu'il n'en faut pour obtenir le même résultat avec l'adrénolutine. Nos constatations rejoignent donc celles de l'auteur.

Néanmoins nous n'avons pas jugé très utile de retenir ce moyen de discrimination et avons toujours utilisé le mélange extemporané :

0,9 ml NaOH à 20 pour cent,
0,1 ml acide ascorbique à 2 pour cent,

qui nous a paru convenir dans les deux cas.

Voici donc en définitive la technique que nous avons choisie.

2. — Technique

a. — *Réactifs utilisés*

α) Adrénaline base (Prolabo)

Nous avons préparé des solutions mères par pesée de 10 mg du produit en poudre et dissolution dans 10 ml d'eau bidistillée additionnés d'une goutte d'HCl.

Nous avons effectué à chaque expérience des dilutions au 1/10 000 à partir de cette solution mère conservée au réfrigérateur.

β) Noradrénaline

— DL noradrénaline chlorhydrate (Sterling-Winthrop Co. N. Y. U.S.A.) ;

— L noradrénaline D. bitartrate (même provenance) ; ici 2 mg du produit correspondant à 1 mg de base L.

Nous avons opéré comme pour l'adrénaline pour la préparation des solutions.

γ) Tampon acétate *p*H 6

Obtenu en mélangeant :
9,5 ml d'une solution 1 M d'acétate de soude (R. P.),
0,5 ml d'une solution 1 M d'acide acétique (R. P.).

δ) Ferricyanure de potassium (R. P.)

Solution à 0,25 pour cent dans l'eau bidistillée.

ε) Soude (R. P.) (Serlabo)

Solution à 20 pour cent à partir de la soude en pastilles.

ζ) Acide ascorbique recristallisé

La solution à 2 pour cent devant être préparée à chaque expérience et mélangée extemporanément à la soude.

b. — *Préparation des échantillons*

α) Préparation du standard

On introduit 1 ml de la solution de référence (ou une fraction de 1 ml ramenée à 1 ml avec de l'eau bidistillée) dans un flacon de verre de 25 ml.

On y ajoute 0,5 ml de tampon (*p*H 6) puis 0,1 ml de ferricyanure de potassium à 0,25 pour cent; on homogénéise et laisse 3 mm au repos. On mélange alors 0,9 ml de soude à 20 pour cent à 0,1 ml d'acide ascorbique à 2 pour cent et à la troisième minute, on prélève 0,5 ml de cette solution mixte et on l'ajoute au contenu du flacon. Après agitation on laisse 5 minutes au repos avant de faire la lecture.

β) Préparation de l'échantillon

On opère de même à partir de 1 ml de la liqueur à doser.

γ) Préparation du blanc réactif

N'ayant très généralement que de très faibles quantités d'adrénaline et de noradrénaline, nous devons toujours tenir compte de la minime fluorescence due aux réactifs; cette fluorescence est appréciée par des blancs ,c'est-à-dire par des réactions voisines de celles faites avec les deux amines, mais où la fluorescence trihydroxyindolique ne devrait pas se développer, soit par défaut d'oxydation, soit par absence de stabilisation de leurs dérivés.

L'étude de ces blancs a déjà fait l'objet d'une suite de travaux. C'est ainsi que Kaufmann et Koch [103] ont étudié la fluorescence des blancs utilisés par Euler et par Price.

Le blanc Euler I : tous les réactifs sont ajoutés à l'échantillon sauf l'acide ascorbique qui est introduit juste avant la mesure. Dans ce cas il n'y a pas de

stabilisation et la fluorescence s'atténue progressivement.

Le blanc Euler II : tous les réactifs sont ajoutés à l'échantillon sauf le ferricyanure qui est apporté seulement juste avant la mesure. Dans ce cas il n'y a pas d'oxydation.

Le blanc de Price : on ajoute d'abord l'acide ascorbique puis le ferricyanure et 3 minutes après, la soude seule. L'oxydation est empêchée.

La fluorescence de tous ces blancs augmente avec le temps, de sorte qu'il est capital de faire les mesures toujours après le même laps de temps.

La valeur de ces blancs ayant beaucoup d'importance pour nos expériences, nous les avons nous-même essayés et nous avons comparé leurs effets.

3. — Résultats personnels

a) En effectuant la détermination de quantités connues des deux aminoalcools en solution mixte dans l'eau, et en défalquant des intensités de fluorescence qu'émettent leurs dérivés, la fluorescence de l'un des deux blancs Euler et Price, on constate que les résultats obtenus sont à peu près les mêmes quand les quantités à déterminer sont assez importantes (au-dessus de 0,1 µg). Pour les teneurs en adrénaline et noradrénaline de l'ordre de 0,05 µg, le blanc de Price donne le meilleur résultat. Enfin, pour des quantités minimes d'adrénaline et de noradrénaline (0,01 µg) le blanc de Price donne seul des résultats justes, le blanc Euler II modifiant considérablement les rapports de fluorescence permettant la séparation. Dans ce dernier cas, il est indispensable de faire les lectures juste à la huitième minute depuis le début de la réaction car la fluorescence du blanc monte très vite.

b) Le blanc Euler I est toujours le moins fluorescent des blancs. Les résultats que nous obtenons en défalquant sa fluorescence sont toujours entachés d'erreurs.

Nous avons en définitive adopté le blanc de Price pour toutes nos déterminations.

C. — Détermination dans un mélange des taux d'adrénaline et de noradrénaline

Le contenu de chaque flacon correspondant : 1) au blanc réactif, 2) au standard, 3) à l'échantillon, est transféré à la huitième minute dans une cuve de 1 cm² de section. Nous avons pu constater que nous pouvions utiliser de simples cuves de verre (cuves Cora Jobin-Yvon) qui, sélectionnées, permettent de faire des lectures dont l'erreur ne dépasse pas 2 à 3 pour cent.

Les intensités de la fluorescence émise par les dérivés de l'adrénaline et de la noradrénaline ont été mesurées à l'aide du spectrophotomètre électronique Jobin-Yvon.

1. — Caractéristiques de l'appareil

La lumière d'excitation émise par une lampe à vapeurs de mercure est dirigée sur un monochromateur (qui permet de travailler avec des bandes passantes étroites). Elle traverse ensuite les solutions à étudier et la lumière de fluorescence émise par celles-ci impressionne la cathode d'une cellule photoélectrique qui émet un flux d'électrons capté par l'anode; un galvanomètre décèle le passage du courant. On lit alors le nombre de divisions correspondant aux déviations de l'aiguille.

L'appareil ne possédant qu'un seul monochromateur pour la lumière d'excitation ne permet pas le fractionnement de la lumière de fluorescence. Il a donc fallu avoir recours à l'emploi de filtres.

Heller et coll. [86] ayant établi que les maximums de fluorescence se situaient aux longueurs d'onde de 540 mµ pour les solutions alcalines d'adrénaline, et de 520 mµ pour les mêmes solutions de noradrénaline (v. fig. 2), nous avons après différents essais, utilisé le filtre jaune Wratten 15 qui permet le passage d'une lumière de fluorescence comprise entre 500 et 700 mµ.

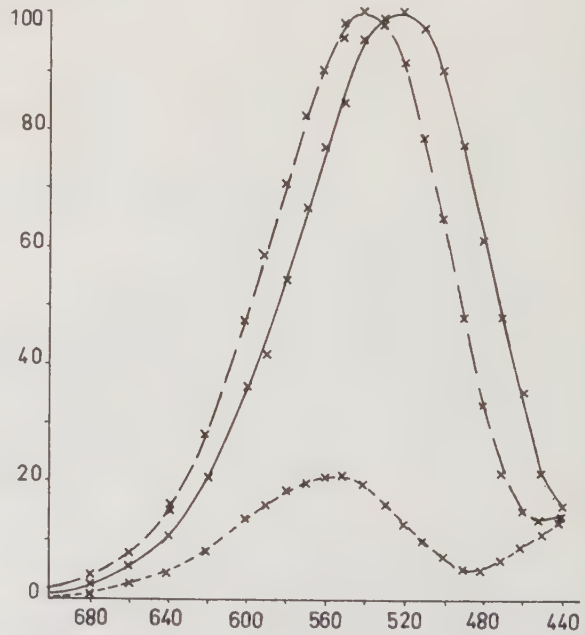


Fig. 2. — Spectres de fluorescence.
En abscisse. — Longueurs d'onde de la lumière de fluorescence émise en mµ.
En ordonnée. — Nombre de divisions lues au galvanomètre.
——— adrénaline 0,5 µg,
——— noradrénaline 1 µg,
- - - - - - - - blanc (tous les réactifs seuls).
Pour obtenir ces spectres, la cuve contenant la solution fluorescente a été placée entre la lampe à vapeurs de Hg et le monochromateur, le périscope étant abaissé et le filtre secondaire retiré.

Si l'on porte en abscisse les longueurs d'onde de la lumière d'excitation et en ordonnée le nombre de divisions données par le galvanomètre correspondant aux intensités de fluorescence émise par l'adrénolutine et la noradrénolutine (lecture échantillon moins lecture blanc) on obtient les courbes reproduites ci-dessous.

a. — *Adrénolutine*

La courbe présente 3 maximums aux 3 raies caractéristiques du mercure : 436 mμ, 405 mμ et 365 mμ, le plus important se situant à 436 mμ (fig. 3).

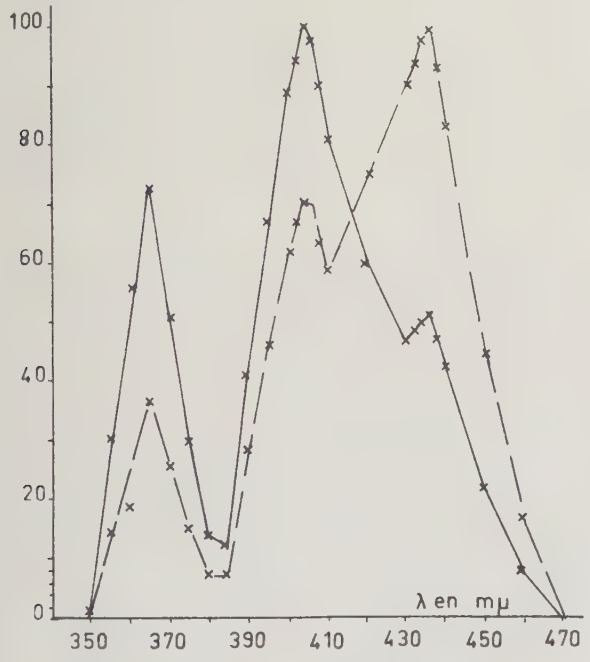


Fig. 3. — Intensités de fluorescence en fonction des longueurs d'onde de la *lumière d'excitation.*
En abscisse. — Longueurs d'onde de la lumière excitatrice en mμ.
En ordonnée. — Nombre de divisions lues au galvanomètre (échantillon - blanc)
— — — — adrénaline 0,20 μg H 6 mm, I 0,8 mm,
——— noradrénaline 0,50 μg H 4 mm, I 0,8 mm.
Filtre secondaire Wratten 15 (laissant passer de 500 à 700 mμ).

La fig. 4 montre les différentes courbes obtenues quand on fait varier la largeur des fentes d'entrée et de sortie de la lumière d'excitation. C'est une largeur de fentes d'environ 1 mm qui donne les meilleurs résultats.

On constate qu'il existe des rapports approximativement constants entre les intensités de fluorescence émise aux longueurs d'onde indiquées, quelles que soient les concentrations d'adrénaline essayées.

C'est ainsi que le rapport

$$\frac{\text{lecture } 436\ \text{m}\mu}{\text{lecture } 405\ \text{m}\mu} \simeq 1{,}6$$

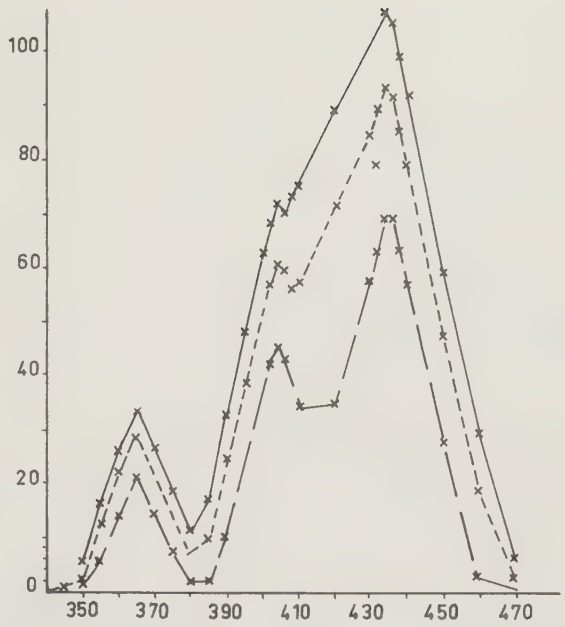


Fig. 4. — Influence de la largeur des fentes d'entrée et de sortie de la lumière d'excitation sur la courbe spectrale caractéristique de l'adrénolutine (Adr. 0,2 μg).
En abscisse. — Longueurs d'onde de la lumière excitatrice en mμ.
En ordonnée. — Nombre de divisions lues au galvanomètre.
Recherche de la largeur optimale.
——— 1 1,1 mm,
- - - - - - - - - 1 1 mm, H constante 8 mm
— — — — — 1 0,8 mm.

b. — *Noradrénolutine*

Que le dérivé soit obtenu à partir de la noradrénaline DL ou de la noradrénaline L on retrouve là encore les 3 maximums, mais le plus important se situe cette fois à 405 mμ (fig. 3).

Les rapports entre les maximums d'intensités de la fluorescence restent aussi constants;

$$\frac{\text{lecture } 436\ \text{m}\mu}{\text{lecture } 405\ \text{m}\mu} \sim 0{,}6$$

Mesures. — Les lectures d'intensité de fluorescence sont faites en utilisant les deux longueurs d'onde excitatrices 405 mμ (maximum pour la noradrénaline) et 436 mμ (maximum pour l'adrénaline).

Le calcul des quantités X d'adrénaline et Y de noradrénaline contenues dans un même échantillon se fait de la façon suivante :

m_1 étant le nombre de divisions du galvanomètre correspondant à 405 mμ,

m_2 le nombre de divisions correspondant à 436 mμ, les déviations a_1 (405 mμ) et a_2 (436 mμ) correspondant à l'adrénolutine, b_1 (405 mμ) et b_2 (436 mμ) correspondant à la noradrénaline sont telles que l'on a

$$m_1 = a_1 + b_1, \qquad (1)$$

$$m_2 = a_2 + b_2, \qquad (2)$$

Connaissant la constance des rapports

$$\frac{\text{lecture 436 m}\mu}{\text{lecture 405 m}\mu},$$

soit ρ_1 pour l'adrénaline et ρ_2 pour la noradrénaline (on peut d'ailleurs vérifier ces rapports à chaque essai à partir de solutions étalons), on a aussi

$$\frac{a_2}{a_1} = \rho_1 \qquad \text{et} \qquad \frac{b_2}{b_1} = \rho_2 . \qquad (3)$$

La résolution de ce système d'équations donne pour l'intensité maximum de fluorescence correspondant à l'adrénaline (436 mμ)

$$a_2 = \frac{\rho_1 m_2 - \rho_1 \rho_2 m_1}{\rho_1 - \rho_2}$$

et pour l'intensité maximum correspondant à la noradrénaline (405 mμ)

$$b_1 = \frac{\rho_1 m_1 - m_2}{\rho_1 - \rho_2} .$$

Connaissant la concentration d'adrénaline et de noradrénaline dans les solutions étalons ainsi que les déviations qui leur correspondent à 436 mμ (adrénaline) et 405 mμ (noradrénaline) on en déduira la concentration des deux amines dans l'échantillon.

2. — Applications a des solutions mixtes

Pour vérifier ces systèmes numériques, nous avons, à l'aide de ces formules, calculé les quantités d'adrénaline et de noradrénaline introduites dans des mélanges divers.

Quantités ajoutées en μg		Quantités trouvées en μg	
Adr.	Noradr.	Adr.	Noradr.
0,05	0,50	0,050	0,495
0,10	0,40	0,095	0,38
0,20	0,30	0,205	0,32
0,25	0,25	0,247	0,27
0,30	0,20	0,287	0,207
0,40	0,10	0,404	0,085

Nous avons dû opérer à différentes sensibilités du spectrophotomètre suivant les teneurs respectives des deux amines en présence.

Les résultats obtenus sont beaucoup plus précis pour l'adrénaline que pour la noradrénaline; des erreurs de plus de 10 pour cent sont possibles avec cette dernière substance, en particulier lorsqu'elle n'est présente qu'en très faible quantité (S. Larno-Vacheron [106], [107]).

II. — DETERMINATIONS FLUORIMETRIQUES DE L'ADRENALINE ET DE LA NORADRENALINE DANS LE PLASMA SANGUIN

A. — Extraction de l'adrénaline et de la noradrénaline du plasma

1. — Travaux antérieurs

Afin d'appliquer au plasma la méthode de dosage mise au point sur les solutions aqueuses pures des deux aminoalcools diphénoliques il est indispensable de préparer tout d'abord des extraits contenant le moins possible d'autres substances susceptibles d'interférer et de fausser les déterminations; il faut donc extraire sélectivement l'adrénaline et la noradrénaline du plasma.

Des méthodes d'extraction diverses ont été réalisées par de nombreux auteurs. Certains d'entre eux effectuent au préalable une *déprotéinisation* par :

— l'acide trichloracétique (Euler), ou

— l'éthanol acide Crawford et Outschoorn [40], Euler et Purkhold [54].

Cette simple déprotéinisation n'est pas suffisante pour obtenir de bons résultats. On peut en effet étudier son rendement en ajoutant des quantités connues d'amines au plasma. On constate alors qu'elles ne se retrouvent qu'avec des rendements très variables et généralement mauvais; il se fait en effet un abondant précipité qu'on élimine. On risque ainsi qu'une partie des amines ajoutées, adsorbées sur ce précipité, soit perdue.

Sur les liquides clairs ainsi obtenus ,il faut alors continuer l'extraction.

Différents procédés ont été utilisés.

a. — *Chromatographie sur papier*

Utilisée par Crawford, Outschoorn et Vogt. Nous avons reproduit cette technique (déprotéinisation par l'alcool chlorhydrique puis chromatographie sur papier) mais nous n'avons retrouvé l'adrénaline et la noradrénaline ajoutées au plasma initial qu'avec de mauvais rendements. Il est probable que les pertes sont importantes au cours des nombreuses manipulations.

b. — *Adsorption suivie d'élution*

Plusieurs agents adsorbants sont capables de capter les amines pyrocatéchiques directement dans un liquide homogène; tels sont l'acide silicique (Whitehorn [192]) et surtout l'alumine : 1) l'oxyde d'aluminium ajouté à la solution ou 2) l'hydroxyde d'aluminium précipité à l'état naissant (Shaw [154]), (Goldenberg et coll. [69]).

Les résines échangeuses d'ions (amberlites) ont également été utilisées (Bergström et Hansson [20]) mais semblent donner de moins bons résultats.

La récupération des amines adsorbées se fait par élution, et l'emploi de nombreux acides a été préconisé :

— l'acide acétique 0,1 ou 0,2 N (Lund),
— l'acide sulfurique 0,25 N (Euler),
— l'acide phosphorique,
— l'acide oxalique 0,2 N (Pekkarinen [133], [134], [135])

Nous décrivons la méthode de Weil-Malherbe la plus utilisée actuellement.

Cette méthode a pour nous l'avantage de s'appliquer directement au plasma.

L'adsorbant est l'oxyde d'aluminium activé préalablement par chauffage avec l'acide chlorhydrique 2 N, lavé, séché puis calciné.

c. — *Description de la méthode*

Le sang est recueilli dans un tube à centrifuger refroidi dans la glace et contenant 5 ml de solution anticoagulante antioxydante (2 g FNa, 3 g $S_2O_3Na_2$ 5 H_2O pour 100 ml) pour 25 ml de sang; il est immédiatement centrifugé et le plasma, prélevé, est additionné de son volume d'acétate de sodium tampon 0,2 N *p*H 8,4; on porte alors le *p*H du mélange obtenu à 8,4 à l'aide de quelques gouttes d'une solution de CO_3Na_2 0,2 N. L'*adsorption* des amines s'effectue lors du passage de ce plasma dilué à travers une colonne de 1 g d'oxyde d'aluminium en suspension dans l'acétate, le liquide s'écoulant goutte à goutte. Après lavage à l'acétate tampon (5 ml) puis à l'eau (5 ml) de la colonne, *l'élution* se fait par passage de 5 ml d'acide acétique 0,2 N suivis par 5 ml d'eau.

2. — Travail personnel

a. — *Adsorption*

Nous avons pu constater, comme l'ont fait certains auteurs ayant adopté ce procédé, qu'il pouvait être simplifié sans inconvénients.

En particulier il n'est pas nécessaire de diluer le plasma, ni d'amener le *p*H rigoureusement à 8,4 avant le passage sur l'alumine activée (nous avons utilisé l'oxyde d'aluminium pur pour chromatographie tamis 80); la colonne peut être réalisée à l'aide d'une suspension de 1 g de cette alumine activée dans de l'eau bidistillée; le p*H* en est alors légèrement acide. En effectuant la suspension dans l'acétate de sodium et en amenant le *p*H à 8,4, le même que celui du plasma, le pourcentage d'adsorption des amines ajoutées n'est pas modifié. Il nous semble inutile que le *p*H soit rigoureusement 8,4; il existe une zone optimale allant de 7,5 à 9.

On peut, au lieu d'effectuer le passage du plasma sur une colonne, ajouter simplement l'alumine sèche, amener le *p*H à 8,4 et agiter mécaniquement une dizaine de minutes suivant la technique décrite par Euler et Orwen [53] pour l'urine; dans ce cas, il faut augmenter la quantité d'alumine ajoutée et filtrer ou centrifuger après l'agitation pour la récupérer. Ce procédé est plus rapide; il est aussi plus commode quand le plasma peu fluide colmate la colonne adsorbante, et s'écoule très difficilement; il a de plus l'avantage d'éviter les pertes possibles quand on expérimente sur un grand volume de liquide à *p*H 8,4 : dans ce cas en effet le liquide séjourne nécessairement un certain temps au-dessus de la colonne avant de la traverser pour que se fasse l'adsorption.

Nous avons finalement adopté une solution intermédiaire en ajoutant l'alumine sèche (1 g) au plasma, ajustant à *p*H 8,4 et transvasant cette suspension dans l'ampoule à décanter, où l'alumine se dépose pour former une colonne que traverse forcément le liquide en s'écoulant.

Nous avons de plus modifié légèrement la technique de Weil-Malherbe en lavant la colonne non pas à l'acétate de sodium mais à l'acétate d'ammonium 3 M capable d'éluer des catabolites acides qui éventuellement pourraient être présents dans le plasma (Von Euler) et être adsorbés par l'alumine. C'est en effet à l'aide de solutions d'acétate d'ammonium que Goodall, Kirshner et Rosen [71] éluent les catabolites acides isolés à partir de l'urine (en particulier l'acide 3-4 dihydroxymandélique). Nous avons en tout cas pu constater que ce lavage par l'acétate d'ammonium ne gêne en rien la récupération de l'adrénaline et favorise nettement celle de la noradrénaline ajoutées au plasma.

b. — *Elution*

Afin de comparer le pouvoir éluant de différents acides (nous en avons cité quelques-uns couramment utilisés) il est d'abord indispensable d'entreprendre des mesures de fluorescence avec des quantités connues d'adrénaline ou de noradrénaline en solution non plus dans l'eau, mais dans chacun des acides choisis; celui-ci devant avoir la même concentration que celle qui sera utilisée pour l'extrait de plasma (l'élution se faisant par exemple à l'aide de 5 ml d'acide acétique 0,2 N suivis de 5 ml d'eau, dans l'éluat, l'acide est 0,1 N). Il est important également, surtout pour les dosages de noradrénaline, que ces standards soient faits dans l'acide ayant traversé comme l'éluat une colonne d'alumine afin de ne pas négliger l'influence des sels d'alumine dissous. Nous avons en effet constaté que pour une quantité donnée d'adrénaline en solution dans les acides acétique 0,1 N, sulfurique 0,125 N, phosphorique 0,125 N ou oxalique 0,1 N, les intensités de la fluorescence après sa transformation en lutine sont environ 80 pour cent de celle obtenue à partir de la même quantité en solution dans l'eau, que ces acides soient ou non passés sur l'alumine.

Au contraire, pour une quantité donnée de noradrénaline, en solution dans les mêmes acides, la fluorescence qui est encore 60 à 90 pour cent de celle obtenue avec les solutions dans l'eau quand les acides ne sont pas passés sur l'alumine, n'est plus que 30 à 40 pour cent, quand il y a eu passage préalable.

Pour comparer les pouvoirs éluants des acides mentionnés nous avons pris 4 parties aliquotes de 5 ml de plasma frais; à chacune nous avons ajouté 1 µg de noradrénaline ou 1 µg d'adrénaline (quantités énormes par rapport à celles contenues dans le sang), puis 1 g d'alumine, 5 gouttes de CO_3Na_2 0,2 N (jusqu'à *p*H 8,4). Après sédimentation dans une ampoule à décanter, lavage par 5 ml d'acétate de NH_4 et par 5 ml d'eau, nous avons élué respectivement chaque culot par 5 ml : 1) d'acide acétique 0,2 N; 2) de SO_4H_2 0,25 N; 3) de PO_4H_3 0,25 N et 4) d'acide oxalique 0,2 N. Chaque élution par les différents acides a été suivie d'un lavage à l'eau bidistillée (5 ml). Après comparaison à des standards dilués dans les mêmes acides 0,1 N ayant été en contact avec de l'alumine, il ressort que les différents acides peuvent être utilisés; on retrouve 1) avec les acides acétique et oxalique environ 90 pour cent de l'adrénaline ou de la noradrénaline ajoutées au plasma; 2) avec l'acide phosphorique plus de 100 pour cent de la noradrénaline et de l'adrénaline; mais avec cet acide il se fait dans l'éluat de plasma — et non dans le standard — un abondant précipité blanc qui pourrait bien être du phosphate d'alumine; ce précipité est nécessairement éliminé par filtration de l'éluat de plasma et non du standard avant la mesure, ce qui explique probablement l'exaltation de la fluorescence dans le premier cas; 3) avec l'acide sulfurique 80 à 90 pour cent de l'adrénaline mais 75 pour cent seulement de la noradrénaline.

Ce dernier acide se montre cependant supérieur à l'acide acétique pour les déterminations biologiques des deux amines sur l'animal notamment par le test de la pression artérielle chez le rat : l'injection d'éluats sulfuriques est en effet mieux tolérée par l'animal que celle d'éluats acétiques. De plus une purification de l'extrait sulfurique est possible par traitement à l'acétone-alcool (Euler-Orwen [53]), (Fugazza [62]), ce qui permet d'éliminer les sels d'aluminium et éventuellement les substances inhibitrices fort gênantes pour l'appréciation basée sur l'activité hypertensive.

B. — Modifications apportées à la méthode de dosage définie pour les solutions aqueuses

Travail personnel

Ayant pratiqué cette extraction on obtient finalement une solution acide contenant l'adrénaline et la noradrénaline. Rien ne permet malheureusement d'affirmer que cette solution ne contient pas aussi éventuellement d'autres substances capables de s'adsorber sur l'alumine et de repasser en solution, telles par exemple l'hydroxytyramine, la DOPA, le dihydroxyphénylacétaldéhyde (Holtz et Credner [93]).

C'est en fin de compte sur cet éluat acide qu'on appliquera la technique de dosage fluorimétrique précédemment décrite à partir de solutions aqueuses et cela implique certaines précautions.

α) Nous venons de signaler la nécessité de préparer les standards dans le même acide que celui qui a servi à l'élution; il doit être employé à la même dilution, après avoir élué une colonne d'alumine vierge.

β) Le *p*H de l'éluat étant acide, il convient de tamponner à *p*H 6 avant d'effectuer l'oxydation de l'échantillon. On doit donc ici modifier le tampon utilisé pour les solutions aqueuses. Nous avons eu recours à des solutions d'acétate de sodium 3 N mais on peut aussi se servir d'ammoniaque (Euler et Lishajko [52]) sans inconvénient.

γ) Les faibles taux d'adrénaline et de noradrénaline du plasma obligent souvent à concentrer les éluats de 10 ml jusqu'à 2 ou 1 ml pour rester dans les limites de sensibilité du fluorimètre.

Cette concentration s'opère alors en chauffant l'éluat acide (*p*H 3-4) à 45-50 °C au bain-marie, sous vide. Cette opération est particulièrement délicate et nous avons constaté qu'à partir d'une quantité donnée d'adrénaline ou de noradrénaline dans 10 ml de l'acide utilisé, les mesures fluorimétriques effectuées sur les 2 ml de la solution finale conduisaient à des chiffres très variables d'une fois à l'autre. Il est donc très indiqué de faire lors de chaque détermination un standard adrénaline et un standard noradrénaline (proche des quantités que l'on pense présentes dans l'éluat) traités exactement comme l'éluat (au même *p*H, même temps et température de chauffage, même vide, même degré de concentration). On se réfèrera aux chiffres ainsi trouvés chaque fois.

Préparation des blancs. — Pour comparer les intensités de fluorescence des différents échantillons avec celles des solutions étalons, nous avons dû préparer les blancs réactifs : 1) à partir de l'extrait de plasma; 2) à partir des standards d'adrénaline et de noradrénaline.

Ce sont toujours les blancs de Price : acide ascorbique d'abord, puis ferricyanure de potassium, puis 3 minutes après la soude seule, qui sont utilisés.

Voici donc, en résumé, la méthode d'extraction que nous avons définitivement adoptée.

α) Le sang recueilli sur 5 ml de la solution anticoagulante-antioxydante est immédiatement centrifugé, toujours à la même vitesse.

β) Le plasma prélevé est additionné de 1 g d'alumine Prolabo activée; le mélange est amené à *p*H 8,4 à l'aide de CO_3Na_2 0,2 N puis agité 1 minute. On

transvase dans une ampoule à décanter et on laisse s'écouler le liquide lentement.

γ) Le culot d'alumine est lavé à l'aide de 5 ml de la solution d'acétate d'ammonium 3 M puis de 5 ml d'eau bidistillée.

δ) L'élution est effectuée par passage de 5 ml d'acide acétique 0,2 N suivis de 5 ml d'eau.

C. — Pourcentage de récupération des deux hormones ajoutées au plasma

Afin d'apprécier le procédé d'extraction que nous venons de décrire, nous avons tenté de retrouver des quantités connues d'adrénaline et de noradrénaline ajoutées à du plasma sanguin de chien.

1. — Récupération de l'adrénaline

Quand on ajoute de l'adrénaline (1 μg) à 25 ml de plasma frais, dilué ou non — le plasma provenant d'environ 50 ml de sang de chien recueilli sur 5 ml de solution anticoagulante-antioxydante — la récupération est de 80 à 90 pour cent, ceci même après lent passage à travers une colonne d'alumine à *p*H 8,4 le liquide ayant été également amené à *p*H 8,4 auparavent. Il semble bien que le plasma ait, lui-même, un pouvoir conservateur vis-à-vis de l'adrénaline, fait signalé par de nombreux auteurs dont Varenne [169], car si on remplace le plasma par de l'eau, le pourcentage de récupération est beaucoup plus faible (30 à 50 pour cent).

Par contre, nous ne sommes jamais parvenue à retrouver plus de 8 pour cent de l'adrénaline ajoutée à la purée globulaire obtenue en soumettant au froid poussé (— 25 °C), afin d'hémolyse, le culot d'hématies restant après prélèvement du plasma surnageant. Nous avons dû obligatoirement dans ce cas ajouter l'alumine sèche au magma dilué avec l'acétate 0,2 N, amener à *p*H 8,4 et nous avons dû agiter mécaniquement pour l'adsorption.

De plus, en ajoutant 1 ml de la purée globulaire à 10 ml de plasma additionné de 1 μg d'adrénaline, on ne retrouve également que 7 à 8 pour cent de celle-ci. Il semble donc au contraire que l'hémolysat de globule favorise la disparition de l'amine pyrocatéchique. Bain, Gaunt et Suffolk [13] ont signalé le même fait avec le sang total oxalaté ou défibriné de chat. La conservation de l'adrénaline et de la noradrénaline dans le sang a d'ailleurs fait l'objet de nombreux travaux et les résultats ont été souvent contradictoires : alors que certains auteurs (Elliot [45]), (Isalo [97]) accordent au sang un pouvoir de conservation, d'autres (Sato [149]) observent une dispersion assez rapide de cette substance dans ce milieu. Dans le sang total, il se produit, selon certains, un phénomène de diffusion progressive de l'adrénaline dans les globules rouges où elle se fixerait aux protéines ou aux lipides (Bain et coll. [13]), (Gedroyc et Koskowski [68]). Selon ces derniers une partie considérable de l'adrénaline peut ainsi être soustraite au plasma; on la retrouverait dans les hématites qui en libèrent une proportion variable par hémolyse, le reste étant soit oxydé soit fixé de façon stable.

Nous nous sommes limitée dans ce travail aux déterminations dans le plasma.

2. — Récupération de la noradrénaline

Quand on ajoute de la noradrénaline (1 μg) à 25 ml de plasma on constate souvent que le rapport de fluorescence $\frac{\text{lecture } 436\ \text{m}\mu}{\text{lecture } 405\ \text{m}\mu}$ est différent de celui obtenu avec la solution étalon. Ce rapport au lieu d'être environ *0,50* comme c'est le cas pour la noradrénaline témoin, peut être un peu plus élevé et atteint quelquefois *0,7*. En faisant les calculs, c'est environ 70 pour cent de la noradrénaline ajoutée au plasma qu'on retrouve couramment.

III — APPLICATIONS A QUELQUES CAS EXPERIMENTAUX

A. — Estimation dans le plasma de l'adrénaline et de la noradrénaline endogènes

Il est particulièrement difficile de déterminer avec précision les deux hormones présentes dans le sang dans les conditions normales, étant donné les faibles quantités qui s'y trouvent. Ceci oblige à prélever un assez grand volume de sang et même à saigner l'animal à blanc s'il est de moindre taille, ce qui n'est pas sans inconvénient.

En effet, l'hémorragie provoque la mise en jeu des mécanismes homéostatiques et en conséquence agit sur la sécrétion surrénale d'adrénaline, qu'elle augmente considérablement, et d'autant plus que le volume de sang soustrait est plus grand. Ceci a fait l'objet de nombreuses études chez l'animal; depuis les travaux anciens de Trendelenburg [165], Bedford [19] jusqu'à ceux plus récents de Lund [115], Euler [48], [49], Malmejac, Neverre, Bianchi[119], Watts [176], [177], Millar Benfey [126], Walker, Zileli, Reutter, Shoemaker et Moore [174], Walton, Richardson, Walton et Thompson [172].

L'anesthésie influence également la concentration du sang en amines pressives, en général en la diminuant (Hamelberg, Sprouse, Mahaffay et Richardson [73]), (Richardson, Woods et Richardson [144], [146]), (Walker, Zileli, Reutter et coll. [173]). Ces derniers auteurs ont notamment montré qu'il fallait tenir compte des conditions dans lesquelles on opère :

la douleur, les traumatismes augmentent d'autant plus la sécrétion que l'anesthésie est plus légère; si l'animal est conscient, s'ajoute la libération d'hormones, surtout d'adrénaline, due à l'état émotionnel passif (Elmadjian, Hope et Lamson [46]).

Un autre facteur pouvant intervenir est l'effet du CO_2. La réponse adrénalino-sécrétrice à l'hypercapnie à la température ordinaire a été mise en évidence chez différents animaux : chez le chat par Tenney [161]; chez le chien par Richardson et Woods [145] et Nahas [129]. Par contre, chez le rat, Stupfel et Roffi [157] ont trouvé qu'en dehors de sa zone de neutralité thermique un taux de 10 pour cent de CO_2 provoque une diminution de l'adrénaline plasmatique.

Devant tant de causes d'erreurs il nous paraît pratiquement impossible de fixer la sécrétion normale (ou adrénalinémie physiologique) avec certitude. Aussi avons-nous seulement cherché à l'approcher, en plus ou en moins, en supprimant une ou plusieurs des causes de variation de cette sécrétion.

Recherches personnelles. — Dans toutes nos expériences le sang prélevé reçu sur 5 ml de solution anticoagulante-antioxydante a été immédiatement centrifugé; le plasma recueilli a été soumis au procédé d'extraction décrit, et l'éluat acétique de 10 ml concentré à quelques ml a été comparé à des standards traités de la même façon.

1. — Influence de l'anesthésie et du volume de sang prélevé

a. — *Chez le chien*

1) Nous avons saigné à blanc par la carotide deux chiots frères, l'un anesthésié au chloralose (10 cg/kg), l'autre anesthésié à l'éther.

Nous avons trouvé :

pour le premier, 0,30 µg *d'adrénaline par litre de plasma* ce qui ferait 0,20 µg par litre de sang et 0,60 µg *de noradrénaline par litre de plasma,* ce qui ferait 0,40 µg par litre de sang (nous avons rapporté chaque fois le volume de plasma au volume de sang correspondant, ayant constaté qu'on n'obtenait pas toujours le même volume de plasma à partir du même volume de sang chez les différents animaux mis à notre disposition);

pour le second, 0,55 µg *d'adrénaline par litre de plasma* (0,40 µg par litre de sang) et 1,9 µg *de noradrénaline par litre de plasma* (1,50 µg par litre de sang).

Les concentrations du plasma à la fois en adrénaline et en noradrénaline sont plus fortes après anesthésie à l'éther. C'est aussi ce qui a été signalé par Richardson, Woods et Richardson [146], [144], (Elmes et Jefferson [47]), (Watts [175]), (Brewster, Bunker et Beecher [23]). Cependant ce fait a été infirmé par d'autres (Satake [148]).

Les chiffres que nous venons de donner ne représentent pas, il s'en faut, les teneurs physiologiques, puisque dans les deux cas l'hémorragie a été pratiquée jusqu'à la mort de l'animal, lequel était par surcroit anesthésié.

2) Au cours de nos expériences de perfusion chez le chien adulte (20 à 30 kg) anesthésié au chloralose (12 cg/kg) soumis à la respiration artificielle, nous avons souvent prélevé de 50 à 75 ml de sang, volume non préjudiciable, avant toute intervention et après la perfusion de 5 µg/kg·mn d'adrénaline et l'injection d'inverseur ou de renforçateur.

α) Dans le premier cas, les déterminations, lorsqu'elles ont été possibles, nous ont amenée à des chiffres très bas, de l'ordre de 0,1 µg *d'adrénaline par litre de plasma* (de 0,05 µg par litre de sang) et de 0,4 µg *de noradrénaline par litre de plasma* (0,2 µg par litre de sang).

Ces valeurs restent approximatives étant donné les difficultés rencontrées.

β) Dans le plasma prélevé après perfusion et injection des substances étudiées, nous avons trouvé des chiffres de l'ordre de 1 µg *d'adrénaline par litre de plasma* (0,5 µg par litre de sang) et de 1,5 µg *de noradrénaline par litre de plasma* (0,75 µg par litre de sang).

Il a été démontré en particulier que la perfusion d'adrénaline entraîne une diminution de la teneur en cette hormone de la surrénale (Hazard, Beauvallet, Fuggaza et Solier [80]). Il ne semble pas d'après

Tableau I. — Teneur en adrénaline et noradrénaline du plasma provenant du sang obtenu par saignée complète de l'animal.

Influence de l'anesthésie chez le chiot

Date	Poids du chiot	Volume total de plasma recueilli en ml	Anesthésique utilisé	Teneur en µg par litre	
				Adr.	Noradr.
17-X-60	♂ 4,5 kg	135	chloralose 10 cg/kg i. v.	0,3	0,6
28-X-60	♀ 4 kg	133	éther au masque	0,55	1,9

Tableau II. — Teneur en adrénaline et noradrénaline du plasma provenant d'un prélèvement de sang non préjudiciable à l'animal. Tous les chiens sont anesthésiés au chloralose (12 cg/kg).

Date	Poids du chien	Volume de plasma prélevé en ml	Teneur en µg pour mille	
			Adr.	Noradr.
17-XII-59	♀ 15 kg	25	0	1
22-XII-59	♀ 23 kg	28	0,08	0,2
14-I-60	♂ 24 kg	30	0,08	0,4
3-II-60	25 kg	30	0,1	0
11-V-60	♂ 31 kg	38	0,3	0,8
			moy. 0,1	moy. 0,48
9-III-61	♂ 17 kg	25	0	0,4
16-III-61	♂ 20 kg	28	0	0,4
21-III-61	♂ 25 kg	45	0,06	0,6
20-IV-61	♂ 26 kg	45	0	0,5
27-IV-61	♂ 23 kg	50	0,15	0,2
			moy. 0,05	moy. 0,40

les auteurs qui ont étudié le mécanisme de cette diminution qu'il s'agisse d'une libération de l'amine dans le sang par la glande (Malmejac et coll. [118]). Il s'agirait plutôt d'une diminution dans la production de la glande. Pourtant il nous paraît certain que le taux plasmatique en adrénaline avant que l'expérience n'ait débuté, était nettement inférieur. Nous pensons que les différences observées sont dues à ce que l'adrénaline injectée présente dans le plasma à la fin de la perfusion ne disparaît que lentement.

b. — *Chez le lapin*

Nous avons, chez le lapin, essayé de voir l'influence de différents anesthésiques sur la teneur en adrénaline et noradrénaline du plasma, par comparaison avec l'animal éveillé.

Nous avons dans tous les cas saigné l'animal à blanc en 3-4 minutes à l'aide d'une canule introduite dans la carotide, et séparé immédiatement après le plasma. Le lapin a été anesthésié au chloralose (10 cg/kg i.v.), à l'uréthane (1,25 g/kg i.p.), à l'éther (au masque) ou non anesthésié.

Compte tenu des réserves formulées précédemment, tous les animaux ayant été traités de même façon, les résultats obtenus sont susceptibles d'être comparés. Ils sont consignés dans le tableau III.

Il apparaît des différences certaines suivant que l'on a ou non utilisé l'un ou l'autre anesthésique. C'est ainsi que chez les *animaux éveillés,* lesquels sont anxieux, agités, la teneur du plasma en adrénaline est très élevée (10,5 µg par litre de plasma en moyenne) soit 7 µg par litre de sang, la teneur en noradrénaline semblant faible.

Par contre, chez les *animaux anesthésiés,* le taux d'adrénaline baisse et celui de noradrénaline augmente; des trois anesthésiques expérimentés, c'est l'éther qui permet de déterminer la concentration plasmatique moyenne d'adrénaline la plus proche de celle mise en évidence chez les animaux éveillés (7,5 µg par litre) tandis que la présence de noradrénaline s'affirme (2 µg par litre).

Avec l'uréthane, on trouve dans le plasma presque autant de noradrénaline que d'adrénaline (moyenne 5 µg par litre et 4 µg par litre noradrénaline).

Avec le chloralose (10 cg/kg i.p. ou i.v.) on a les chiffres les plus bas pour la teneur en adrénaline (moyenne 3 µg par litre). On trouve là à peu près autant de noradrénaline.

Donc, plus on trouve d'adrénaline et moins il y a de noradrénaline. Si cette dernière est le précurseur (ainsi que nous l'envisageons dans le chapitre suivant), ceci est plausible.

Les chiffres que nous avons trouvés sont évidemment très élevés, surtout pour les animaux éveillés, ce qui n'a rien de surprenant étant donné toutes les causes d'hypertension que nous avons déjà énumérées. Ils se rapprochent de ceux donnés par Stupfel et Roffi dans le plasma de plusieurs rats décapités et saignés complètement (environ 10 µg d'adrénaline par litre de plasma).

Cependant nous avons remarqué des différences dans la grandeur des chiffres : 1) dans deux cas elles pourraient être dues au fait que le volume sanguin recueilli proportionnellement au poids de l'animal a été très grand, 2) il semble cependant plus probable que l'époque à laquelle les expériences ont été réalisées en soit la cause. Toutes celles mentionnées ci-dessus ont été faites de mi-avril à mi-juillet. Nous avons voulu ensuite répéter les déterminations au mois de novembre suivant; nous avons alors constaté

Tableau III. — Teneur en adrénaline et noradrénaline du plasma provenant du sang obtenu par saignée complète de l'animal.

Influence de l'anesthésie chez le lapin.

Date	Poids du lapin	Volume total de plasma recueilli en ml	Anesthésique utilisé dose et mode inj.	Teneur en µg pour mille	
				Adr.	Noradr.
5-VII-60	2,240 kg	37	0	10	2,7
7-VII-60	1,960 kg	42	0	10,7	0,2
11-VII-60	2,350 kg	63	0	9,5	0,8
12-VII-60	2,570 kg	46	0	12	0
				moy. 10,5	0,9
30-VI-60	2,830 kg	53	éther au masque	6,2	2,5
1-VII-60	2,300 kg	48	éther au masque	8,3	4,2
5-VII-60	3,470 kg	94	éther au masque	3,5	0
7-VII-60	2,810 kg	47	éther au masque	11,2	1,5
				moy. 7,5	2
9-V-60	3,670 kg	63	uréthane 1,25 g/kg i.p.	5,7	4,75
10-V-60	3,780 kg	78	uréthane 1,25 g/kg i.p.	5,5	3,2
16-V-60	2,300 kg	50	uréthane 1,25 g/kg i.p.	5,4	4
19-V-60	2,270 kg	38	uréthane 1,25 g/kg i.p.	4	3,4
				moy. 5	3,8
15-IV-60	2,150 kg	50	chloralose 10 cg/kg i.v.	1,4	3
27-IV-60	2,400 kg	50	chloralose 10 cg/kg i.v.	3,6	2,6
20-V-60	2 kg	60	chloralose 10 cg/kg i.v.	5	3,3
23-V-60	2,500 kg	55	chloralose 10 cg/kg i.v.	1	0,5
27-V-60	2,350 kg	60	chloralose 10 cg/kg i.v.	5	6
				moy. 3	3

que les taux plasmatiques obtenus pour l'adrénaline représentaient 50 pour cent de ceux trouvés en juin-juillet tandis que la noradrénaline faisait tout à fait défaut.

Sur deux animaux non anesthésiés nous avons trouvé *5* µg d'adrénaline par litre de plasma au lieu de *10* µg.

Sur un animal ayant reçu de l'uréthane *1,6* µg par litre au lieu de *5* µg.

Sur un animal anesthésié au chloralose *1* µg par litre au lieu de *3* µg.

Les saisons jouent-elles un rôle, ou la température ? Cela pourrait expliquer les différences observées en avril et mai, période de transition, ces mêmes chiffres bas étant apparus deux fois en ce qui concerne le chloralose; nous n'avons pas suffisamment de résultats pour nous permettre de l'affirmer.

Les animaux arrivant au laboratoire peuvent avoir été plus ou moins acclimatés au froid ou au chaud, ce qui peut modifier aussi leur décharge (Leduc [109]).

L'adrénaline et aussi la noradrénaline sont des hormones du froid; on sait que lorsque l'animal est au-dessous de sa zone de neutralité thermique qui se situe chez le lapin entre 18 et 25°, il augmente sa température notamment en déchargeant de l'adrénaline qui intervient en catalysant l'oxydation des lipides au niveau du foie. Est-ce que l'hiver l'adrénaline mobilisée pour la thermogenèse fait défaut ? Cela pourrait peut-être expliquer les variations que nous avons observées.

En plus de l'anesthésie et de l'hémorragie, un autre facteur peut encore intervenir chez le lapin.

Chez trois animaux non anesthésiés, nous avons en effet pratiqué la respiration artificielle pendant tout le temps de la saignée. Les chiffres obtenus ont été

très variables, une fois plus forts, une fois plus faibles, enfin une fois du même ordre que ceux obtenus sans respiration artificielle. Dans tous les cas il nous a été difficile de régler d'une façon constante le débit d'air allant aux poumons qui a aussi pu varier d'une expérience à l'autre.

2. — Influence des facteurs homéostatiques

Chez d'autres animaux nous avons injecté, avant de prélever le sang, de la spartéine 0,02 g/kg, laquelle inhibe le splanchnique, empêche l'hyperglycémie et l'hypertension adrénalinique due à l'asphyxie (Hazard [77]). De fait chez les lapins ainsi traités, les taux d'adrénaline plasmatique sont plus bas (moyenne 1,5 µg au lieu de 5 µg par litre de plasma pour cette série).

Enfin nous avons essayé un autre ganglioplégique, l'hexaméthonium à la dose de 15 mg/kg i.v. Celui-ci abaisse nettement les taux (1 µg *d'adrénaline par litre de plasma* soit à peu près 0,5 µg par litre de sang). Il est donc certain que des mécanismes réflexes entrent en jeu au cours de la saignée, ce qui se traduit par une augmentation considérable de la teneur du plasma en adrénaline (Walton, Richardson, Walton et Thompson [172]) et l'interruption des voies sympathiques par des agents ganglioplégiques diminue cette augmentation.

3. — Discussion

Un fait apparaît assez clairement, en accord avec de nombreux travaux, c'est que l'anesthésie tend à diminuer ou supprimer la sécrétion surrénale due à l'asphyxie, à la stimulation sensorielle ou hémorragique (Satake [148]). La diminution est d'autant plus grande que l'anesthésie est plus profonde.

L'anesthésie aux barbituriques chez le lapin conduit à une sécrétion normale ou diminuée d'adrénaline (Suzuki, Saito et Kobayashi [158]). Lund [115] a trouvé que le thiopental abaisse le taux à la fois de l'adrénaline et de la noradrénaline dans la glande surrénale. Weil-Malherbe [179] a également montré que les barbiturates abaissent les taux de l'adrénaline et de la noradrénaline dans le sang périphérique. D'autres agents anesthésiques ont un effet variable (Hammond, Aronow et Moore [74]), (Watts [175]), (Manger et coll. [121]).

Il semble bien que le chloralose se rapproche en ceci des barbiturates. En 1928 Tournade et Hermann [164] ont signalé que le chloralose tendait à paralyser temporairement la sécrétion surrénale de l'adrénaline.

L'uréthane doit moins toucher cette sécrétion; en tous cas, il ne modifie pas l'hypertension adrénalinique sauf si le *p*H est devenu nettement alcalin par hyperventilation, ni l'hypertension d'origine sinusale après compression des carotides (Baïsset, Laporte et Montastruc [14]).

L'éther est l'anesthésique qui affecte le moins les réactions normales de l'animal.

Nous avons quelquefois enregistré la pression artérielle du lapin avant l'anesthésie et après; nous n'avons pas observé de chute notable de la pression quand elle n'était pas très élevée auparavent (11 cm Hg) mais dans les cas de forte tension artérielle initiale il semble bien que l'anesthésie provoque une baisse progressive.

a. — *Chez le chien*

Quand le sang a été prélevé avant la perfusion, l'influence de l'hémorragie a été négligeable : en effet on a soustrait au maximum 75 ml de sang à un chien d'environ 25 kg (2 litres de sang) soit à peu près le 1/20 du volume total; mais l'animal était anesthésié au chloralose; ceci peut expliquer les chiffres très faibles trouvés alors. Cannon [29] concluait même à l'absence de sécrétion chez des animaux anesthésiés. Il est donc probable que les teneurs plasmatiques réelles sont supérieures à celles que nous avons trouvées surtout en ce qui concerne l'adrénaline.

b. — *Chez le lapin*

Le sang a été prélevé totalement, quelquefois sans anesthésie générale. Dans ce cas, après avoir supprimé les décharges d'origine réflexe consécutives à l'hémorragie et à l'état de veille, par injection d'un ganglioplégique, on peut espérer approcher, l'erreur étant par excès, la sécrétion basale; celle-ci serait donc de l'ordre de 1 µg *d'adrénaline par litre de plasma* pendant l'hiver, la noradrénaline fait alors, chez cet animal, normalement défaut.

Ceci rejoint les données de West [189] qui, au moyen de méthodes chimiques fluorimétriques et physiologiques, a trouvé dans le sang de lapin normal beaucoup plus d'adrénaline (0,098 µg par ml) mais pas de noradrénaline; Muscholl et Vogt [128] donnent les chiffres de 0,1 à 4 µg par litre de plasma d'adrénaline et sous toute réserve ceux de 0,3 à 1 µg par litre de noradrénaline.

En fait, l'estimation des deux hormones dans le sang de lapin normal est particulièrement difficile à atteindre : « la principale difficulté étant la facilité et la rapidité avec laquelle des changements apparaissent dans le sang s'écoulant, conduisant à la formation ou à la décharge de substances vaso-actives » (Armin et Grant [1]).

Nous avons également tenté d'effectuer des dosages sur 5 ml de sang prélevé au niveau de la carotide mais les chiffres trouvés ont été très variables ne répondant pas à ce que l'on tendrait à admettre comme chiffres normaux.

West [190], dans un article intitulé « Noradrénaline et glandes surrénales de lapin », dit que le sang de la veine surrénale avant stimulation du splanchnique contient de l'adrénaline et quelquefois des traces de noradrénaline. Dans les premières minutes

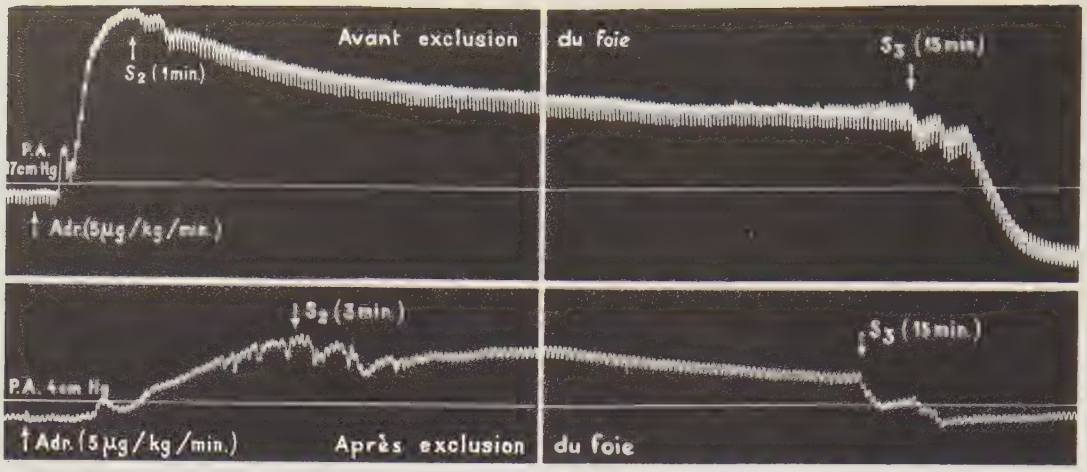


Fig. 5. — Enregistrement de la pression artérielle chez le chien.
Effet de perfusions i.v. d'adrénaline (5 µg/kg·mn) :
a) dans les conditions normales,
b) après exclusion du foie.
En S_2 et S_3 prises de sang pour les dosages.

de stimulation continue il y aurait augmentation dans le contenu en adrénaline et noradrénaline du sang mais la stimulation continuant, il y aurait disparition de la noradrénaline. Les résultats de l'auteur conduisent à la conclusion que, chez le lapin, l'adrénaline est plus importante que la noradrénaline dans la transmission des impulsions nerveuses autonomes.

C'est peut-être la raison pour laquelle ce dernier médiateur se manifeste seulement quand l'anesthésie a notablement diminué la libération d'adrénaline.

c. — *Chez l'homme*

Dans les conditions normales les teneurs plasmatiques des deux amines sont également très faibles; mais chez l'homme porteur de phéochromocytome (tumeur du tissu chromaffin) les teneurs augmentent et parfois considérablement (Lund [116]), (Vendsalu [170]).

La seule conclusion que nous pouvons en tirer est la très grande difficulté que présente toujours l'estimation des deux hormones dans le sang de l'animal ou de l'homme normal. Ainsi que nous allons le montrer, il nous a été beaucoup plus facile de le faire au cours de leurs perfusions.

B. — Estimation dans le plasma de l'adrénaline et de la noradrénaline exogènes introduites dans l'organisme au cours de perfusions intraveineuses sous différentes conditions

Etant donné qu'il était relativement plus aisé de doser la première hormone, nous l'avons tout d'abord estimée dans le plasma au cours de perfusions faites chez le chien.

1. — Détermination du taux d'adrénaline

L'effet sur la pression artérielle de perfusions intraveineuses continues d'adrénaline a été étudié par de nombreux auteurs (Hermann, Morin et Vial [91]), (Latorre, Cardenas et Lopez [108]), (Tiffeneau et Scheiner [162]), (Baudouin, Benard, Lewin et Sallet [16]). Tous signalèrent qu'une hypertension maximale est rapidement atteinte au début d'une perfusion régulière d'adrénaline. Si une hypertension durable en plateau a pu être *parfois observée* (Baudoin et coll. [16]), on constate le plus souvent que l'hypertension maximale est suivie rapidement malgré l'apport constant d'adrénaline, d'un abaissement progressif plus ou moins important de la pression. Dans aucun cas il n'a été observé une montée progressive de celle-ci pendant la durée de la perfusion (fig. 5*a*).

L'arrêt des injections provoque toujours une brusque et forte chute secondaire de la pression artérielle qui descend bien au-dessous de sa valeur normale. L'hypotension secondaire est plus ou moins durable suivant les doses injectées.

α) Conditions expérimentales

Nous avons effectué des dosages d'adrénaline dans le plasma prélevé avant la perfusion puis à différents temps de celle-ci, dont la durée totale a été de 15 minutes. Le débit était de 5 µg/kg par minute de chlorhydrate d'adrénaline injectés dans la veine saphène de plusieurs chiens.

Les prélèvements ont été faits :

1) avant la perfusion,

2) 1 à 2 minutes après le début, quand l'hypertension maximale est atteinte,

3) 15 minutes après le début (juste avant l'arrêt),

4) après l'arrêt quand l'hypotension secondaire est atteinte,

5) pendant le retour à la normale.

40 à 50 ml de sang ont été prélevés chaque fois dans une collatérale de l'artère fémorale, reçus dans un tube à centrifuger refroidi et contenant une solution anticoagulante, puis centrifugés.

Les procédés d'extraction et de dosage qui ont fait l'objet de ce travail ont été appliqués aux différents échantillons de plasma (Hazard et coll. [78]).

β. — Résultats obtenus

1) Avant la perfusion et après le retour à la normale la teneur du plasma en adrénaline est très faible ou *indosable*.

2) Nous avons pu constater que dès le début de la perfusion, au moment de l'hypertension maximale, on ne retrouve jamais dans le plasma la quantité d'adrénaline qu'on y a introduite; il n'en reste pas plus du quart (dans la série d'expériences en moyenne 0,80 μg pour 25 ml de plasma pour un chien de 15 à 20 kg).

3) La quantité d'adrénaline présente dans le plasma n'augmente que peu au cours de la perfusion (augmentation d'environ 0,20 μg pour 25 ml de plasma ou 50 ml de sang) et avant la fin de la perfusion on ne trouve plus que le 1/30 de la quantité apportée. Il convient de noter que le taux d'adrénaline augmente encore légèrement, alors que l'hypertension diminue. On a ici la preuve d'une dissociation entre la valeur de la pression et la teneur du plasma en amine pressive (fig. 6).

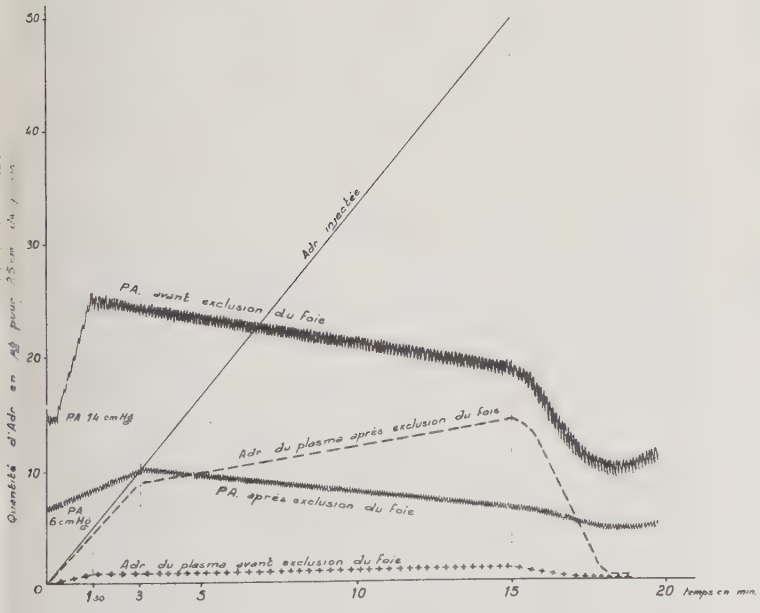


Fig. 6. — Quantités d'adrénaline injectées et retrouvées dans le plasma avant et après exclusion du foie. Effets hypertenseurs produits.

4) Enfin, quand la perfusion cesse, le taux d'adrénaline diminue très rapidement : il revient très vite à la normale.

γ. — Discussion

De nombreux travaux ont été faits pour tenter d'expliquer la baisse de l'hypertension malgré l'apport constant d'amine pressive, notamment par Hermann et son école; leurs expériences faites chez le chien sans moelle « ayant prouvé le siège périphérique du phénomène, et excluant la participation d'un mécanisme d'origine centrale », ils concluent finalement « à une diminution progressive de la vasoconstriction dans tous les territoires de l'économie par augmentation progressive de la sensibilité des récepteurs vasodilatateurs des vaisseaux ».

P. Mazars dans sa thèse [125] invoque la théorie des poisons potentiels de Straub selon laquelle ces substances agissent non pas directement par leur fixation progressive sur la cellule mais par la différence de leur concentration dans la cellule d'une part, et dans le milieu intérieur de l'autre; plus cette différence est grande, plus l'intensité de leur action est marquée. Tiffeneau et Scheiner se sont demandé si l'hormone médullaire ne se comportait pas ainsi. Mais cette théorie ne peut être appliquée à toutes les modifications de pression observées pendant la perfusion.

Certains auteurs dont les vues sont discutables ont constaté que la perfusion d'adrénaline entraînait une augmentation considérable du taux d'histamine plasmatique car les antihistaminiques n'empêchent pas la baisse d'hypertension (Hazard et coll. [83]). Selon d'autres auteurs (Dorner et Swaine [42]), le tétraéthylammonium empêcherait cette chute.

Beaucoup de publications ont pour objet la disparition de l'adrénaline du plasma sanguin : Hunzinger, Ritzel et Staub [94], [95], Taylor [160], Mangan et Mason [120], Poole et Watts [140], Filbert et Weller [55]).

Les dosages effectués nous ont montré que tout à fait au début de la perfusion, quand l'effet était maximal, il y avait déjà relativement peu d'adrénaline dans le plasma, puis l'effet hypertenseur diminuant, la quantité d'adrénaline plasmatique augmentait légèrement. Nous n'avons donc pas observé de proportionnalité directe mais inverse entre la pression artérielle et la teneur en adrénaline du plasma. La pression enregistrée n'est en réalité que la résultante de toutes les variations tensionnelles locales; dans le but de supprimer une bonne partie des mécanismes pouvant intervenir, nous avons perfusé un organe isolé, l'oreille de lapin. Nous avons dosé l'adrénaline diluée dans une solution à 9 pour mille de NaCl, comparativement avant et après passage dans l'organe (Hazard et coll. [85]).

Au début de la perfusion d'une solution à 0,1 μg par ml, quand la vasoconstriction se manifeste et atteint son maximum, c'est environ 50 pour cent de la quantité initiale que l'on retrouve dans le perfusat.

Au moment où l'action est maximale, ce pourcentage atteint 65 pour cent, puis 75 pour cent quand

l'effet diminue, ceci pour une vasoconstriction d'intensité moyenne. Il y a là une sorte d'analogie avec les observations faites chez l'animal entier.

On peut penser que l'adrénaline se fixe dans les tissus, en particulier sur les récepteurs, là où se manifeste son effet et peut-être aussi là où elle est détruite secondairement. Ceci rejoint le point de vue d'Elliot qui soutient la thèse selon laquelle « l'amine pressive ne serait pas métabolisée dans le sang mais là où elle agit ». En fait, nous ne sommes pas parvenue à retrouver l'hormone disparue dans les broyats d'oreille perfusée, mais l'extraction éventuelle à partir du magma obtenu est douteuse.

a. — *Influence du foie*

De nombreuses expériences depuis celles très anciennes de Langlois [105] jusqu'à celles plus récentes de Hunzinger et coll. [94], [95] portant sur des rats hépatectomisés donnent à penser que c'est en passant par le foie que l'adrénaline disparaîtrait. Nous avons donc fait des perfusions chez des chiens toujours anesthésiés au chloralose, soumis à la respiration artificielle, mais ayant cette fois subi l'exclusion circulatoire du foie par anastomose porto-rénale.

Nous avons pu constater que l'hypertension adrénalinique se fait beaucoup plus lentement et beaucoup plus faiblement qu'avant l'exclusion du foie. L'adrénaline combattant difficilement l'abaissement important de la pression artérielle provoqué par l'opération, son maximum (4 cm au lieu de 9 à 12 cm Hg) n'est atteint qu'après 3 minutes environ. La diminution progressive de cette hypertension malgré l'apport constant de l'hormone s'observe encore mais très faiblement; enfin l'arrêt des injections ne provoque qu'une légère chute secondaire de la pression artérielle (fig. 5*b*).

α) Conditions expérimentales

Les mêmes perfusions continues dans la veine saphène d'adrénaline à la dose de 5 μg/(kg·mn) d'une durée de 15 minutes ont été faites après l'exclusion.

Les prélèvements ont encore été pratiqués aux mêmes stades de la perfusion.

L'extraction et les dosages ont été effectués exactement comme dans les expériences précédentes (Hazard et coll. [79]).

β) Résultats obtenus

1) Avant la perfusion la teneur du sang en adrénaline est toujours très faible; mais la moyenne obtenue pour cette série d'expériences semble être plus élevée que celle trouvée dans le plasma avant les perfusions sur l'animal normal. Ceci peut être dû au choc opératoire.

2) Au moment de l'hypertension maximale le plasma contient après exclusion circulatoire du foie la presque totalité de l'hormone injectée (en moyenne 10,6 μg d'adrénaline pour 25 ml de plasma pour les chiens de 20 à 34 kg).

On observe donc ici une dissociation encore plus nette entre l'effet sur la pression de l'adrénaline injectée et le taux que l'on peut déterminer dans le sang circulant : l'effet sur la pression est très faible malgré le taux très élevé de l'hormone (fig. 6).

3) Mais après 15 minutes de perfusion, l'augmentation de la teneur du plasma en adrénaline n'est que d'environ 2 μg pour 25 ml (moyenne 12,7 μg pour 25 ml de plasma) ce qui correspond environ au tiers de la quantité perfusée soit 10 fois plus que chez le chien normal.

4) Après l'arrêt de la perfusion, le taux diminue ici aussi très rapidement mais il reste plus élevé qu'avant la perfusion.

γ. — Discussion

En résumé, le foie joue un rôle très important dans la disparition rapide de l'adrénaline du plasma sanguin. Son intervention est particulièrement décisive au début de la perfusion puisque son exclusion permet alors de retrouver toute l'adrénaline introduite dans l'organisme; ceci n'a rien de surprenant puisque l'on sait que cet organe renferme de nombreux enzymes chargés du catabolisme, notamment la monoamine oxydase et probablement la 0-méthyltransférase; pourtant, la perfusion continuant, la quantité d'hormone présente après 15 minutes a seulement augmenté, un peu plus que chez l'animal normal, mais elle ne représente plus la totalité perfusée; donc le foie n'est que peu ou pas responsable de la disparition ultérieure progressive de l'adrénaline puisque celle-ci a lieu même en son absence : il n'est pas douteux que d'autres tissus interviennent (Jones, Blake [100]), (Watts et Poole [178]).

D'autre part, Axelrod et coll. [9], après perfusion d'adrénaline marquée au tritium (H_3) à des chats, ont trouvé qu'elle est rapidement et sélectivement prise par le cœur, la rate, les glandes pituitaire et surrénales. Des quantités appréciables de H_3-adrénaline seraient encore présentes dans les tissus 2 heures après son administration. Mais il y aurait une barrière au cerveau (Weil-Malherbe, Axelrod et Tomchick [180]).

Il est étonnant de voir cette fois encore, une relation inverse entre l'hypertension produite et la quantité d'adrénaline présente dans le plasma; la première est très basse alors que la seconde est très élevée.

b. — *Influence des adrénalinoverseurs*

Si la perfusion est faite non pas chez l'animal normal mais chez le chien soumis à l'action d'adrénolytiques on observe alors une hypotension (fig. 7) dont la puissance et la durée varient suivant la vitesse de perfusion et la quantité d'adrénalinoverseur injectée (Hermann, Jourdan, Morin et Vial [89]), (Delga et Hazard, [41]).

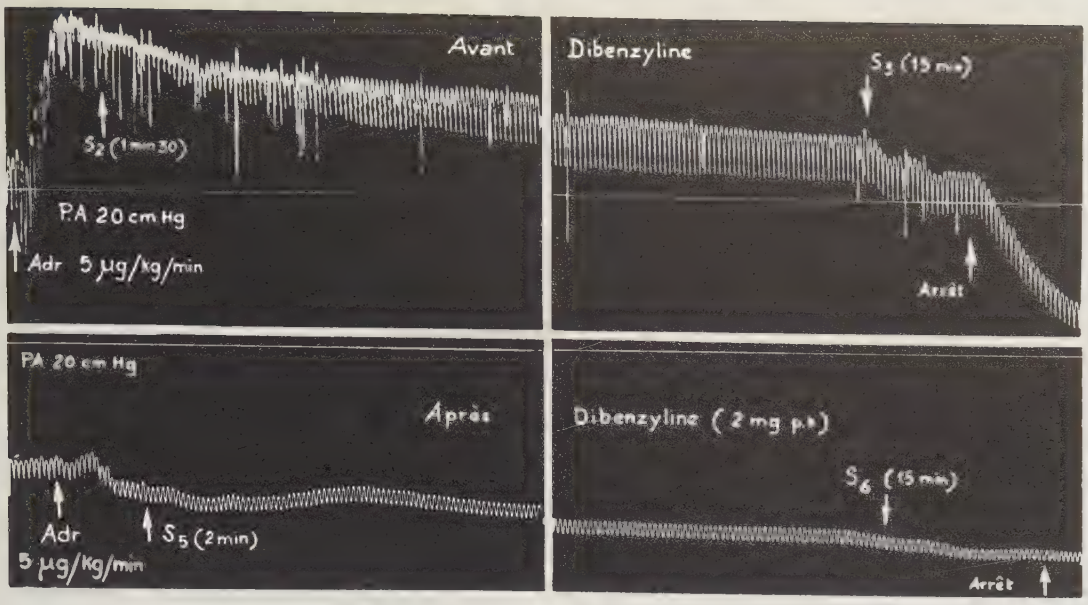


Fig. 7. — Enregistrement de la pression artérielle chez le chien.
Effet de perfusions i.v. d'adrénaline (5 µg/kg·mn) :
***a*) dans les conditions normales,**
***b*) après injection i.v. de dibenzyline (2 mg/kg),**
(expérience du 3-VII-59).

α) Conditions opératoires

Nous avons repris nos expériences sur des chiens toujours anesthésiés au chloralose et soumis à la respiration artificielle mais ayant reçu cette fois des injections dans la veine saphène de l'un des 3 adrénolytiques suivants :

1) l'yohimbine : 1 mg/kg,
2) la phénoxybenzamine (dibenzyline*) : 2 à 5 mg/kg,
3) la tolazoline (priscol* Ciba) : 10 mg/kg.

Une première perfusion de chlorhydrate d'adrénaline à la dose de 5 µg/kg·mn, d'une durée de 15 minutes, a été faite tout d'abord comme témoin. L'arrêt de cette perfusion provoquant une forte chute secondaire de la pression nous avons toujours attendu le retour à la pression normale pour injecter les adrénolytiques; puis 15 minutes après, nous avons effectué la seconde perfusion d'adrénaline identique à la première. Les prélèvements ont été encore pratiqués :

1) quelques minutes avant chaque perfusion,
2) deux minutes après le début de la perfusion, quand l'hypertension ou l'hypotension maximales sont atteintes,
3) 15 minutes après le début de la perfusion.

Nous avons, chez deux animaux, comme contre-épreuve, fait suivre la première perfusion par une seconde, sans injecter l'adrénalinoverseur, le même intervalle de temps séparant toujours les deux perfusions (Hazard et coll. [81]).

β) Résultats obtenus

1) Dans le plasma prélevé avant les premières perfusions, la teneur moyenne en adrénaline est très basse; avant les secondes perfusions, 1/4 d'heure après l'injection des adrénolytiques, le taux moyen en adrénaline du plasma a été plus élevé mais même la plus forte dose de dibenzyline injectée (5 mg/kg) n'a pas provoqué une décharge importante de l'hormone médullo-surrénalienne comme celle observée par Millar et coll. [127] avec les doses de 20 mg/kg.

2) La quantité d'adrénaline présente au début des perfusions, quand l'hypertension ou l'hypotension atteignent leur valeur maximale augmente en général à la deuxième perfusion que l'animal soit soumis ou non à l'action des adrénalinoverseurs. C'est ainsi que l'augmentation maximale s'observe à la fois chez un témoin (0,8 µg pour 25 ml de plasma 2 minutes après la première perfusion 1,7 µg, 2 minutes après le début de la seconde) chez un animal soumis à l'injection de tolazoline (1,15 µg à 2 minutes de la première, 2,35 µg à 2 minutes de la seconde) et aussi chez deux chiens après action de la phénoxybenzamine (2,2 µg au même moment avant, 4,4 µg pour l'un, 1,4 et 2,6 µg pour l'autre).

3) A la fin de la perfusion la concentration en adrénaline du plasma a peu augmenté, plutôt moins après adrénolytiques qu'avant.

γ) Discussion

L'ensemble de ces constatations montre que l'injection au chien de l'un des trois adrénalinoverseurs cités ne change en rien la teneur en adrénaline du plasma pendant les perfusions intraveineuses continues de l'hormone.

La lyse des effets tensionnels ne se manifeste donc pas seulement dans le sens d'une diminution de l'hy-

pertension, l'hypotension obtenue en perfusant l'hormone chez l'animal ayant reçu un inverseur se réduit progressivement et d'une façon analogue. Hermann, Jourdan, Morin et Vial [89] ont constaté le phénomène après injection de benzodioxanes, Tiffeneau et Scheiner chez le chien traité par l'yohimbine [163].

Les premiers auteurs insistent sur le caractère de généralité du mécanisme compensateur d'adaptation mis en jeu par l'organisme « quel que soit le sens des réponses vasculaires à une injection continue d'hormone, elles sont peu à peu corrigées au fur et à mesure que l'expérience se poursuit » « ceci n'a rien d'étonnant : il eut été au contraire surprenant de voir l'organisme rester passif devant son invasion par un excès d'hormone ».

Cependant, au cours de nos expériences sur l'oreille isolée de lapin, nous avons fait d'autres constatations : une première perfusion de dibénamine ou de dihydroergotamine supprime l'effet vasoconstricteur qu'engendre une perfusion ultérieure d'adrénaline. Dans ces conditions pratiquement toute l'hormone est présente dans le liquide perfusé qui s'écoule alors rapidement; en ralentissant la vitesse d'écoulement comme cela se passe lors de la vasoconstriction il y a un déficit de 25 pour cent.

Les adrénolytiques étudiés empêchent l'effet vasoconstricteur (ils bloqueraient d'après Ahlquist, les récepteurs α responsables de ce phénomène). On peut penser alors que l'adrénaline qui n'est plus fixée se retrouve dans les perfusats; mais si l'hormone séjourne au contact des tissus elle peut être soustraite partiellement au liquide de perfusion captée peut-être par les cellules, en dehors des récepteurs. Ainsi pourrait s'expliquer la disparition de l'hormone perfusée chez l'animal entier.

c. — *Influence des sensibilisateurs*

Nous avons refait d'autres expériences après action de deux sensibilisateurs bien connus : la cocaïne et l'éphédrine déjà utilisée par Hermann et coll. [88]. A la dose de 1 à 2 mg/kg (injectée par voie intraveineuse ou intramusculaire) ces deux agents renforcent et prolongent l'hypertension adrénalinique et par conséquent ralentissent et diminuent l'abaissement de la pression artérielle observée chez le chien soumis à une perfusion continue de l'hormone (Hazard et coll. [83]).

α) Conditions opératoires

Une première perfusion toujours à la dose de 5 μg/kg·mn a été faite avant l'action du sensibilisateur puis une seconde, 15 minutes après l'injection de :

cocaïne (HCl) : 1 mg/kg,
éphédrine (HCl) : 2 mg/kg,

et les prélèvements de plasma effectués toujours aux mêmes moments des perfusions (Hazard et coll. [82], [84].

β) Résultats obtenus

Au cours de perfusions normales uniques nous avons établi le rapport :

$$\frac{\text{adrénaline trouvée après 15 minutes}}{\text{adrénaline trouvée après 2 minutes}}.$$

Pour une série il a été en moyenne de 1,25 mais il a été trouvé aussi de 1,8 à 1,9 pour une autre série. Si l'on pratique deux perfusions successives d'adrénaline ce même rapport décroît à la seconde perfusion : de 1,8; 1,9 il passe à 1; 1,25.

Après l'action des sensibilisateurs ce rapport $\frac{\text{adr. 15 mn.}}{\text{adr. 2 mn.}}$ augmente nettement ; de 1,25 pour la deuxième perfusion il s'élève à 2 après action de la cocaïne et à 2,3 après action de l'éphédrine qui se montre le sensibilisateur le plus actif.

Ainsi ces deux substances qui diminuent l'abaissement secondaire de la pression artérielle observée chez le chien soumis à une perfusion intraveineuse d'adrénaline, ralentissent en même temps la disparition de l'hormone dans le plasma.

γ) Discussion

Le problème posé par le renforcement et la prolongation de l'hypertension adrénalinique sous l'influence des substances sensibilisatrices et surtout de la cocaïne et de l'éphédrine n'est pas encore résolu.

Après injection de ces substances l'allure générale de la courbe n'est guère modifiée; cependant la diminution progressive de l'hypertension s'effectue plus lentement et la teneur en adrénaline du plasma est plus élevée qu'au cours d'une perfusion témoin, surtout à la fin de la perfusion. Dans ce cas il y a une proportionalité directe entre l'effet sur la pression et la concentration de l'adrénaline plasmatique puisque celle-ci augmente. Ceci est l'inverse de ce que nous avons constaté au cours des expériences précédentes.

L'hypothèse selon laquelle la cocaïne exerce son action renforçatrice en diminuant la destruction de l'amine par inhibition de l'aminoxydase est discutable.

Des antiaminoxydasiques comme le SKF 385 B et le JB 516 injectés aux chiens 16 heures avant la perfusion d'adrénaline (aux doses de 5 mg/kg sous-cutané pour le premier et de 8 mg/kg par la même voie pour le second) ne modifient guère les quantités d'hormone retrouvées dans le plasma. Soit qu'ils les augmentent légèrement comme le font les sensibilisateurs, soit qu'ils ne les modifient pas ou bien qu'ils les diminuent (il est possible dans ce cas que ces corps, antioxydants, gênent les réactions d'oxydation conduisant aux dérivés fluorescents).

Ceci rejoint les vues de nombreux chercheurs qui trouvent en particulier que les antiaminoxydasiques ne prolongent pas les actions physiologiques de l'adrénaline et de la noradrénaline *in vivo* (Corne et Graham [39], Friend, Zileli, Hamelin, Reutter [61]).

Pour certains les IMAO augmenteraient la capacité des cellules à fixer les amines biogènes (Pletscher [138], [139]); ceci pourrait expliquer pourquoi sur l'oreille isolée de lapin, nous avons constaté que l'iproniazid comme l'éphédrine et la cocaïne, augmentaient les pourcentages de disparition de l'adrénaline perfusée en même temps qu'ils prolongeaient son action. Kamijo, Koelle et Wagner [102] concluent que l'effet potentialisant des hydrazides sur l'adrénaline et de même sur la noradrénaline n'est pas dû à l'inhibition enzymatique. Pour ces auteurs ces produits interféreraient avec la pénétration des amines à l'intérieur des cellules et ainsi prolongeraient leur présence en concentrations effectives aux niveaux des récepteurs.

2. — Détermination dans le plasma de la noradrénaline introduite dans l'organisme au cours de perfusions intraveineuses continues

Nous avons répété les expériences de perfusions avec de la noradrénaline dans les mêmes conditions que celles décrites. Il en ressort que les mêmes constatations générales sont valables pour la noradrénaline.

α) Les teneurs du plasma en noradrénaline au bout de 2 mn puis de 15 mn de perfusion sont du même ordre de grandeur que celles de l'adrénaline, mettant en évidence des pourcentages voisins de disparition dans le sang.

Sur l'oreille isolée de lapin ceux-ci semblent encore plus élevés qu'avec l'adrénaline; on retrouve plutôt moins d'hormone dans les perfusats (5 pour cent puis 15 pour cent puis 25 pour cent au cours de la perfusion d'une solution à 0,1 μg par ml).

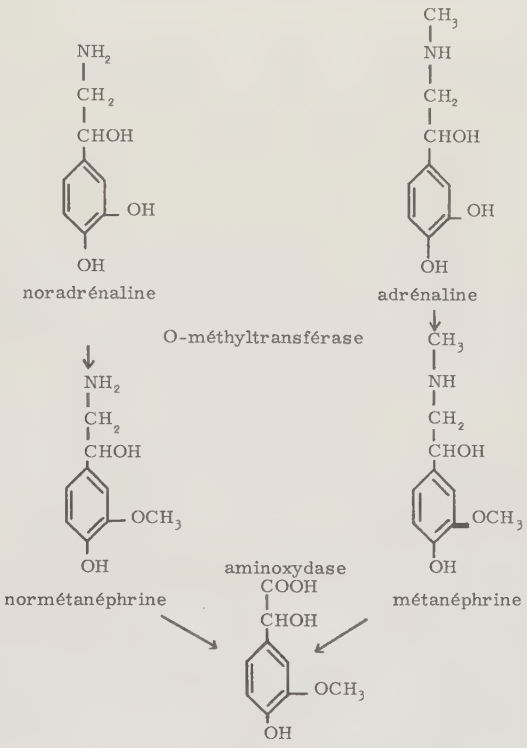
β) Les adrénolytiques ne modifient pas non plus le rapport $\frac{\text{quantité de noradrénaline trouvée à 15 mn}}{\text{quantité de noradrénaline trouvée à 2 mn}}$.

γ) Les sensibilisateurs, éphédrine, cocaïne tendent à augmenter le rapport mentionné ci-dessus, renforçant l'hypertension en même temps qu'ils ralentissent la disparition de l'hormone. Trendelenburg [166], Burn et Rand [28] pensent que durant la perfusion, la noradrénaline est captée et mise en réserve par les tissus; des amines comme l'éphédrine la libèrerait. Pour Mac Millan [117], l'hormone serait prise du sang en particulier par le cœur et les parois des vaisseaux; sa disparition dans le plasma serait en partie due à ce fait et pas entièrement à la destruction. La cocaïne combattrait la captation par les tissus.

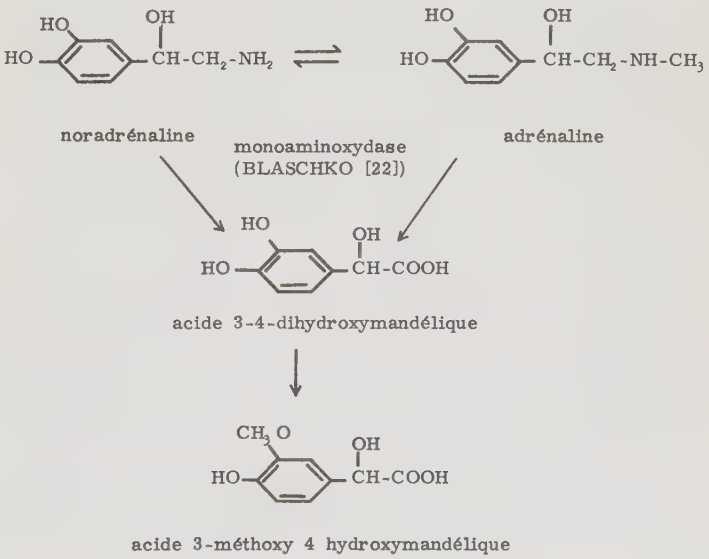
δ) Enfin les antiaminoxydasiques agissent dans le même sens que les sensibilisateurs (quand ils agissent) mais n'empêchent pas la disparition de la plus grande partie de l'une ou de l'autre hormone perfusée.

La possibilité d'inactivation des deux hormones par d'autres enzymes que la monoaminoxydase est à envisager. Pour Axelrod [6], [7], [8], c'est la 0-méthyltransférase, qui à partir de l'adrénaline et de la noradrénaline conduit aux dérivés méthoxy — métanéphrine et normétanéphrine — inactifs physiologiquement; il s'agit d'une méthylation, le donneur de méthyle pouvant être la S adénosylméthionine. La monoaminoxydase interviendrait secondairement sur ces dérivés méthoxy pour les transformer par désamination oxydative en un catabolite commun l'acide 3-méthoxy-4-hydroxymandélique, corps trouvé en grande quantité dans l'urine (Armstrong et Mac Millan [2], [3], [4].

Processus d'inactivation selon AXELROD



Autre possibilité d'inactivation



Schaepdryver [151], [152] et Kirvhner [153], chez le chat suggèrent pour l'adrénaline deux voies métaboliques alternatives majeures : désamination oxydative (pas forcément secondairement) et 0-méthylation, et deux voies mineures : conjugaison et une réaction non identifiée.

Au cours de nos mesures de fluorescence, nous avons été frappée par un phénomène qui se manifeste lors des déterminations de noradrénaline consécutives aux perfusions.

α) C'est ainsi que, parmi les expériences faites après IMAO, pour deux d'entre elles, la prise de sang faite au début de la perfusion de noradrénaline a donné un éluat sur lequel le dosage fluorimétrique a montré une valeur du ρ particulièrement élevée (voisine de 1). C'est le même phénomène que celui que nous avons déjà rencontré et signalé quand nous avons ajouté de la noradrénaline au plasma de chien *in vitro*. Le spectre d'activation effectué sur l'éluat, comparé à celui du standard, a montré une remontée dans la zone 430-440 mμ caractéristique de l'adrénaline. Les calculs en donneraient au maximum 0,02 μg/ml d'éluat, soit 0,2 μg pour 25 ml de plasma.

β) Au cours des perfusions normales de noradrénaline chez le chien n'ayant rien reçu au préalable, les dosages dans le plasma ont montré aussi dans la généralité des cas, une valeur du ρ légèrement plus élevée pour l'éluat que pour le standard mais les perturbations sont alors négligeables.

γ) Les perfusions faites sur l'oreille isolée de lapin ont conduit aux mêmes constatations : le ρ du perfusat était 1,1, celui de la noradrénaline dans les mêmes conditions 0,65 et celui de l'adrénaline 1,7.

S'agit-il dans tous les cas de très petites quantités d'adrénaline formées aux dépens de la noradrénaline mise au contact des tissus ou des fluides de l'organisme ?

Par les expériences de Bulbring [24], [26], la formation d'adrénaline à partir de noradrénaline par le tissu surrénal broyé, et dans la glande surrénale perfusée, a été mise en évidence; elle a été confirmée souvent depuis (Kirshner et Goodall [104]), (Hutcheon et Parker [96], (Masuoka, Schott, Akawie et Clark [123], [124]), (Goldstein, Friedhoff et Sandler [70]), (Hermann, Berger, Cier et Peyrin [87], [34], [35], [136]). Ces derniers auteurs concluent à la présence de quantités importantes d'adrénaline marquée dans la glande mais aussi dans les produits sécrétés par la médullo-surrénale lorsqu'on fournit à cette dernière de la noradrénaline marquée; ils considèrent que la noradrénaline constitue chez le chien un précurseur de son homologue méthylé qui serait le vrai produit de sécrétion surrénale. De plus, Whitby, Axelrod et Weil-Malherbe [191] ayant étudié le devenir de H_3-norepinéphrine dans l'organisme après injection intraveineuse ont constaté que l'hormone était prise et retenue sélectivement, entre autres tissus, par la surrénale.

Néanmoins il se pourrait également qu'il s'agisse d'un produit de catabolisme de la noradrénaline placée au contact des tissus. A ce propos, au cours d'une des deux expériences dont il a été question plus haut, après IMAO où nous avons fait une chromatographie sur papier de l'éluat nous avons pu révéler une tache nette alors que les quantités de standards théoriquement présentes dans cet éluat n'ont pas été détectées.

Ce phénomène n'a pas été observé sur la prise de sang faite à la fin de la perfusion.

Dans ces deux expériences après IMAO on pourrait penser qu'il s'agit de normétanéphrine laquelle n'étant plus métabolisée par l'aminoxydase elle-même bloquée, puisse s'accumuler au début de la perfusion; elle pourrait accompagner la noradrénaline non touchée par la méthylation, au cours des processus d'adsorption et d'élution; elle pourrait aussi être éliminée ensuite par l'organisme au cours de la perfusion.

Mais pour expliquer que la normétanéphrine interfère dans les phénomènes de fluorescence il faudrait admettre que, soumise à la méthode trihydroxyindole, elle donne elle-même des produits fluorescents ou susceptibles d'exalter la fluorescence de la noradrénaline dans la zone 430-440 mμ. Or nous avons pu constater, à partir d'un échantillon de normétanéphrine [1] qu'il n'en était pas ainsi et il faut donc rejeter cette hypothèse.

Il en va de même pour l'acide 3-4-dihydroxymandélique, autre catabolite de la chaîne conduisant à l'acide 3-méthoxy-4-hydroxymandélique.

Enfin d'autres possibilités sont à envisager, de nombreuses substances étant susceptibles de modifier le rapport de fluorescence aux deux longueurs d'onde caractéristiques.

Par exemple la 5-hydroxytryptamine (sérotonine) à la concentration de 0,1 μg par ml est capable d'agir ainsi. Mélangée à de la noradrénaline à la même concentration elle peut élever le ρ à 1 et faire penser à de l'adrénaline. Mais en diluant davantage la 5-hydroxytryptamine, cet effet régresse.

Il est difficile de penser que la quantité de 5-hydroxytryptamine contenue dans les tissus soit telle qu'elle puisse interférer.

IV. — CONFRONTATION DES RESULTATS OBTENUS PAR LA METHODE FLUORIMETRIQUE AVEC CEUX QUE DONNENT LES DETERMINATIONS BIOLOGIQUES

A. — Généralités

Les procédés de dosages biologiques utilisent l'action de la solution à doser soit sur un organe isolé, soit sur la pression sanguine d'un animal.

(1) Nous remercions vivement Monsieur le Professeur Axelrod qui nous a fourni cet échantillon.

Il importe non seulement que les préparations soient sensibles mais encore qu'elles réagissent d'une façon différente à l'action de l'une ou de l'autre amine — en fait la plupart des organes sont plus sensibles à l'adrénaline mais on peut augmenter ces sensibilités et ces différences réactionnelles par différents moyens.

Les procédés les plus utilisés peuvent se ramener à trois types généraux :

1) dosage au moyen des effets sur deux organes isolés,

2) dosage par étude des actions des amines sur la pression artérielle d'une part et sur un organe isolé d'autre part,

3) dosage à l'aide du seul test de la pression artérielle avant et après blocage des récepteurs constricteurs par un agent sympatholytique [92].

Dans tous les cas, le dosage se fait par mesure et comparaison entre l'effet produit sur le réactif biologique par un volume donné de l'extrait à doser et celui fourni par une quantité donnée d'amine témoin; il est prudent de répéter et d'encadrer les réponses étant donné la variabilité des réponses du test biologique.

1. — Principaux organes isolés utilisés

a. — *Intestin*

Différents segments de l'intestin d'animaux divers se sont révélés utiles :

— *iléon ou duodénum de lapin :* plus sensible à l'adrénaline (Pinkston, Greer, Brannon et Baxter [137]);

— *colon de rat* (Gaddum et Lembeck [65]), les auteurs provoquent alors des contractions par l'acétylcholine et inhibent ensuite celles-ci par les amines qui toutes deux agissent de la même façon;

— *coecum rectal de poulet* (Barsoum et Gaddum [15]), (Von Euler et son école). C'est le test le plus sensible qui répond le plus souvent à 1/1 000 de µg d'adrénaline.

b. — *Utérus*

— *De chatte non gravide* (Bacq, Cannon et Rosenblueth [30], [31]), les auteurs pratiquent l'enregistrement du tonus; l'organe est 50 à 100 fois plus sensible à l'adrénaline qu'à la noradrénaline;

— *de chatte gravide,* qui réagit plus facilement à la noradrénaline;

— *de ratte* (Jalon, Bayo et Jalon [98]), l'activité spontanée que montre facilement cet organe est calmée par un abaissement de la température du bain et de la teneur en calcium de la solution de Locke. Les contractions acétylcholiniques sont inhibées par les deux amines mais l'adrénaline réagit à plus faible dose.

Cette technique a été utilisée pour des dosages dans le plasma notamment par Rapela et Houssay [143] et Vogt [171].

c. — *Membrane nictitante énervée*

(Bacq [10]), Burn et Bulbring [25]). Elle peut être sensibilisée par la tutocaïne et devient alors plus réactive à la noradrénaline (Burn, Hutcheon et Parker [27]), (Lockett [110]).

d. — *Fragments d'aorte thoracique de lapin*

(Furchgott et Bhadrakom [63], [64]), (Bevan [21]), (Wurzel et coll. [194]), (Williamson et Moore [193]). Préparation sensible à 10 µg de noradrénaline par litre.

L'utilisation de ces organes isolés présente certains avantages : d'emploi facile, le réactif est vite prêt mais il s'épuise rapidement et ses réponses sont susceptibles d'être faussées si l'extrait à doser n'est pas pur; la préparation est alors vite détériorée. L'effet de certains cations n'est pas négligeable (Szilagyi, Szatai et Csaba [159]).

2. — Pression artérielle

Celle-ci permet de comparer les effets des deux amines; dans ce but, on s'est servi de la plupart des animaux de laboratoire : chien, chat, lapin, rat...

Afin de les rendre plus sensibles et d'éliminer certains facteurs gênants, les animaux sont souvent vagotomisés ou traités préalablement par différentes drogues (atropine, hexaméthonium, antihistaminiques, etc...) ou bien amyélés (chien, chat, rat sans moelle); la sensibilité de ces derniers aux actions tensionnelles est particulièrement accrue (Hermann, Morin et Vial [90]).

Le test de la pression artérielle est complexe; même si l'on exclut les réflexes vasculaires d'origine centrale, trois facteurs périphériques restent en jeu : l'action cardiaque, l'action vasoconstrictrice et l'action vasodilatatrice, mais ce test a l'avantage d'être plus spécifique que les autres tests précédemment décrits.

3. — Appréciation des réponses

Si l'on utilise soit deux organes isolés, soit un organe isolé et la pression artérielle d'un animal, les effets des deux amines sur chacune des deux préparations sont mesurés; ceci permet d'établir les rapports existant entre les actions et de calculer les quantités présentes dans un mélange au moyen de formules appropriées (Bulbring).

Si l'on utilise l'unique test de la pression artérielle d'une part sur l'animal normal et d'autre part, sur le même animal traité par un sympatholytique, on dose

d'abord les amines totales, puis secondairement, l'amine dont l'action est inversée, l'autre étant estimée par différence; ceci suppose la lyse totale de l'une et l'inversion franche de l'autre — c'est ce qui se passe le plus souvent avec la tolazoline, les benzodioxanes, etc... chez le chien (Hermann et son école).

B. — Expérimentation; résultats personnels

1. — Utilisation d'organes isolés

Nous avons d'abord, à l'instar de nombreux auteurs cités, diminué à l'aide d'adrénaline, les contractions du fragment d'organe produites par l'acétylcholine ou la carbaminoylcholine. Le dosage consiste à rechercher le volume d'extrait produisant le même pourcentage d'inhibition qu'une quantité connue d'amine. Gaddum et Lembeck utilisent un dispositif spécial permettant l'addition au bain de l'agent contracturant à intervalles de temps réguliers. On obtient ainsi une série de courbes constantes. Si entre temps, on fait agir des doses croissantes d'adrénaline il est facile d'apprécier le pourcentage d'inhibition en comparant la hauteur des courbes obtenues.

a. — *Intestin de cobaye*

Nous avons employé le colon et l'iléon terminal dans un bain de 5 ml de tyrode, lequel était oxygéné à travers un verre fritté divisant finement le gaz (Savini [150]).

Même après sensibilisation par l'ésérine et la morphine, les quantités d'adrénaline le plus souvent nécessaires pour diminuer de moitié la contraction standard sont élevées, de l'ordre de 0,5 à 5 µg, et ceci nous a fait rejeter ce moyen de dosage.

b. — Utérus de ratte

La méthode utilisée a été celle de Gaddum et Lembeck [65] dans laquelle l'organe est suspendu dans la solution indiquée par Jalon, Bayo et Jalon [98], mais l'acide lysergique a été ajouté à la solution de lavage (5 µg par litre) pour empêcher la stimulation de l'organe par la sérotonine du sang (Franko, Bragg, Watts [60]), si l'extraction n'a pas éliminé cette substance.

Les contractions ont été produites par la carbaminoylcholine (de 20 à 100 µg).

La diminution de 50 pour cent de ces contractions est recherchée à la fois avec une solution d'adrénaline témoin et avec l'extrait.

Cette préparation se révèle bien moins sensible vis-à-vis de la noradrénaline que de l'adrénaline, laquelle peut être utilisée aux doses de 0,05 µg (voire 0,01) à 0,1 µg.

Nous avons vite abandonné cette méthode de dosage qui manque de spécificité et qui, ne permettant pas la différenciation des deux amines, est insuffisante à elle seule.

2. — Pression artérielle de rat ♂

Le test de la pression artérielle répond à la fois à l'adrénaline et à la noradrénaline et permet de les différencier grâce aux inverseurs. Il a l'avantage d'être plus spécifique et bien plus sensible que les organes isolés, surtout à la noradrénaline.

Le rat mâle est anesthésié par injection intrapéritonéale d'hydrate de chloral (30 mg par 100 g); il est soumis à la respiration artificielle après bivagotomie. La pression est mesurée à la carotide en utilisant une fine canule de verre ou de polythène reliée à un petit manomètre à mercure Palmer. Les animaux sont héparinés. Les injections sont faîtes dans la veine du pénis; le volume à injecter est de 0,1 ml à 0,5 ml avec 0,5 ml de sérum physiologique pour le rinçage; il est indispensable de stabiliser la pression par injection d'hexaméthonium (environ 0,5 ml d'une solution à 15 mg d'hydrate par ml pour un rat de 200 g) ce qui sensibilise également l'animal; il est aussi atropiné (1 mg/kg). Dans ces conditions, il répond par une courbe hypertensive appréciable à 0,1 µg voire à 0,05 µg d'adrénaline et 0,05 µg voire 0,01 µg de noradrénaline.

On compare la courbe obtenue par injection d'un volume déterminé d'éluat à celles données par les standards en solution dans les mêmes acides, aux mêmes concentrations et *p*H.

On estime ainsi dans un premier temps les teneurs en amines totales. Ensuite on traite l'animal par un sympatholytique (tolazoline ou yohimbine 1 mg/kg) qui supprime plus ou moins complètement les effets constricteurs, modifiant ainsi le rapport d'activité des deux substances; l'action de l'adrénaline est inversée celle de la noradrénaline seulement diminuée ou supprimée; si cette dernière était toujours lysée on doserait secondairement, après l'inverseur, l'adrénaline seule. Pratiquement ce n'est pas toujours le cas, l'effet de la noradrénaline étant seulement le plus souvent diminué; le mélange des deux amines produit donc une hypertension s'il contient surtout de la noradrénaline, une hypotension s'il est riche en adrénaline; pour déterminer chacune des deux amines on opère sommairement par tâtonnement en comparant à des mélanges types. On ne saurait donc prétendre évaluer avec précision la quantité de chaque amine présente dans un éluat, mais cette méthode biologique assez sélective, nous a permis de contrôler, dans plusieurs cas, les résultats fluorimétriques.

Par contre, il ne nous a pas été possible d'apprécier de cette façon les teneurs du plasma normal chez le chien.

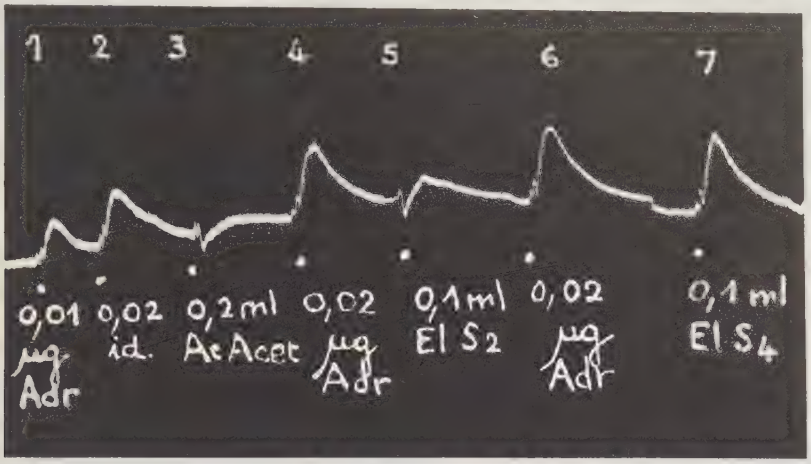
La technique du rat spinal ne nous a pas montré de sensibilisation de l'animal aux amines pressives (Shipley et Tilden [155]).

3. — Comparaison des résultats obtenus par dosage fluorimétrique et dosage biologique (test de la pression artérielle du rat)

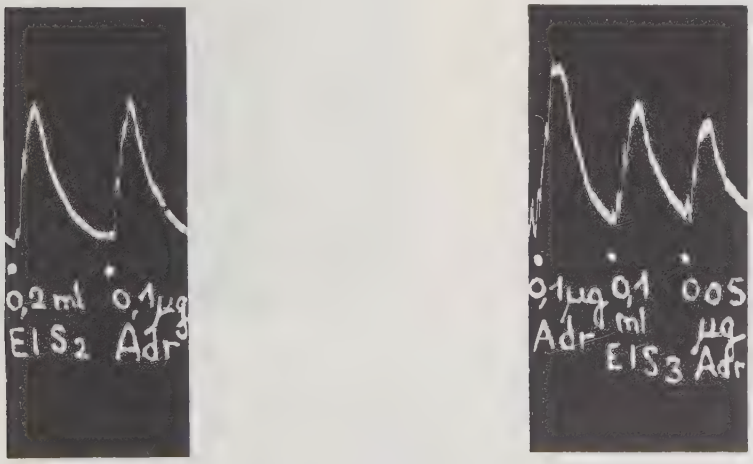
Quand l'adrénaline est perfusée chez l'animal normal à la dose de 5 µg/kg·min, (50 ml environ de sang étant prélevé dans l'artère fémorale) la teneur en adrénaline du plasma est relativement faible. Les déterminations sont donc assez difficiles dans ces conditions : il faut injecter des volumes assez grands d'éluats, ceux-ci renfermant de 0,1 à 0,2 µg d'hormone par ml de solution acétique.

Nous avons néanmoins confirmé qu'il y avait peu de différence entre les quantités trouvées dans les éluats de plasma, que le sang soit prélevé au début ou après 15 mn de perfusion.

Par contre, après exclusion du foie, la teneur en adrénaline est telle que les dosages biologiques ont pu être effectués en utilisant les éluats dilués, ce qui facilite les mesures.

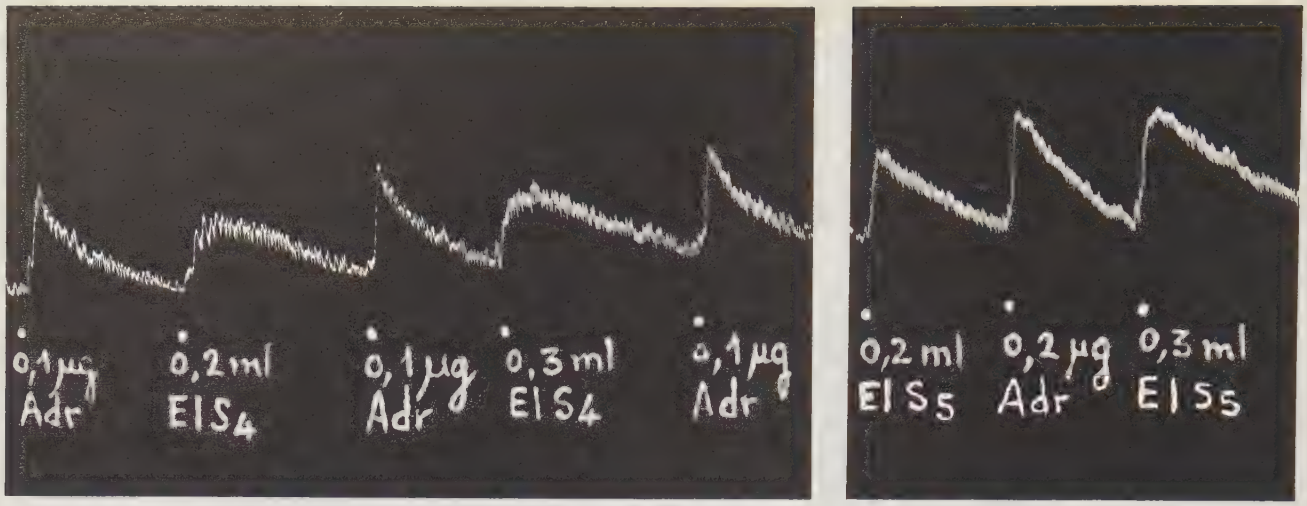


a. — Exp. du 28-IV-60.
(2 perfusions consécutives d'adrénaline).
Prise de sang en S_2 (après 1 mn 30 de la 1e perfusion).
Prise de sang en S_4 (après 15 mn de la 2e perfusion).
Dans ces conditions l'éluat S_2 (5) est pauvre en adrénaline. Nous pouvons seulement dire que 0,1 ml contient moins de 0,01 µg adr. (1) et donc 10 ml moins de 1 µg.
Résultats fluorimétriques : 10 ml → 25 ml plasma → 0,7 µg adr.
Les courbes 6 et 7 étant identiques 0,1 ml El S_4 correspond à 0,02 µg d'adr.
10 ml → 2 µg.
Résultats fluorimétriques : 10 ml → 2,2 µg.



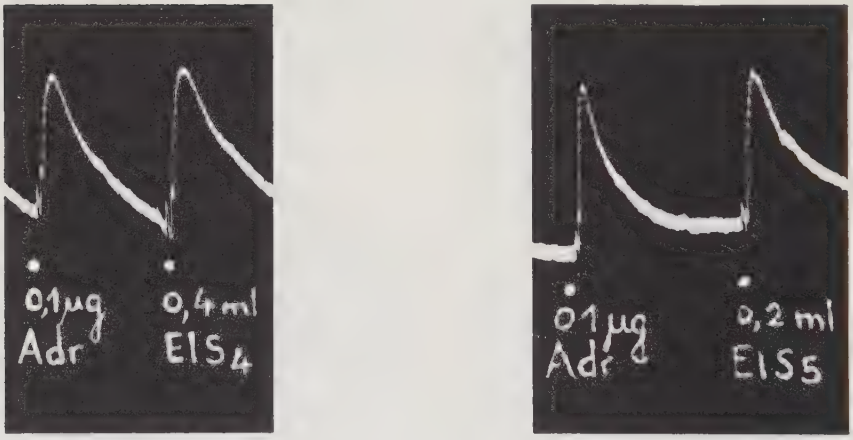
b. — Exp. du 3-III-59
(perfusion après exclusion du foie) :
0,2 ml El S_2 → 0,1 µg adr. 10 ml → 25 ml plasma → 5 µg adr.,
0,1 ml El S_3 correspond approximativement à 0,075 µg adr.
10 ml → 25 ml plasma → 7,5 µg adr.

Fig. 8. — Résultats obtenus après injection à des rats des éluats acétiques provenant d'échantillons de plasma prélevés au cours de perfusions i.v. d'adrénaline chez le chien.



a. — Exp. du 28-I-60
(perfusions avant et après éphédrine)
La prise de sang S_4 a été faite à 1 mn 30 de la 2e perfusion.
La prise de sang S_5 a été faite à 15 mn de la 2e perfusion.

Au cours de cette expérience nous avons constaté que l'injection de volumes croissants d'éluat n'engendrait pas des effets hypertensifs proportionnels ni tout à fait comparables à ceux donnés par le standard. Dans ces conditions, les résultats biologiques ont été moitié de ceux trouvés par dosage fluorimétrique.



b. — Exp. du 17-II-60
(perfusions avant et après cocaïne)
0,4 ml El S_4 → 0,1 µg adr. (0,4 ml ac. acét.) 10 ml → 25 ml plasma → 2,5 µg
0,2 ml El S_5 → 0,1 µg adr. 10 ml → 5 µg.

Fig. 9. — Résultats obtenus après injection à des rats des éluats acétiques provenant d'échantillons de plasma prélevés au cours de perfusions i. v. d'adrénaline.

Teneur en adrénaline du plasma au cours de perfusions intraveineuses de l'hormone après exclusion circulatoire du foie

Date	Poids du chien	Teneur en adrénaline du plasma au cours de perfusions de 5 µg/kg mn (en µg par 25 ml de plasma)					
		Avant exclusion du foie 1 à 2 mn après perfusion	Après exclusion du foie				
			1 avant perfusion	2 3 mn après P. A. max.		3 15 mn après		4 après arrêt P. A. min.
			Fluor.	Fluor.	Biol.	Fluor.	Biol.	Fluor.
28-I-59	34		0,115	10,5	10	13	12	
17-II-59	24			11,4	10	16	11,7	0,5
23-II-59	12		0,035	11,4	9,2	15,2	10,7	
3-III-59	20	0,70	0,035	5,6	5,6	6,4	7,5	
12-III-59	21	1,2	0,03	14	14	13	13	0,45

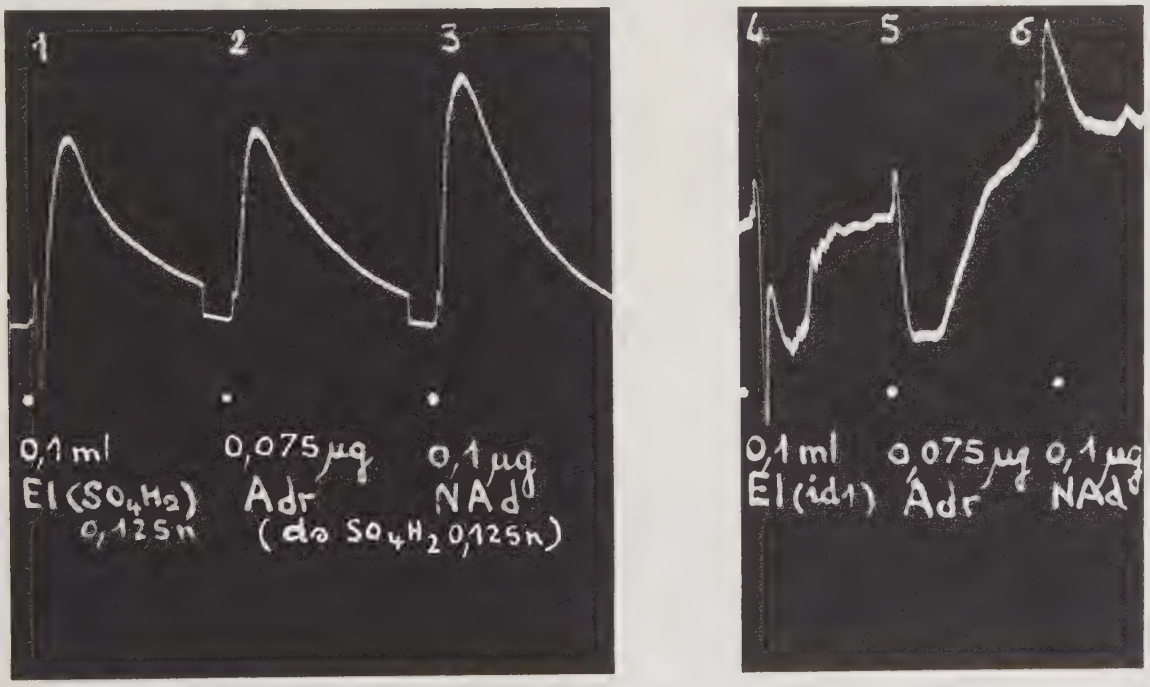


Fig. 10. — Résultats obtenus après injection à un rat d'un éluat sulfurique. Discrimination de l'adrénaline et de la noradrénaline. Cet éluat provenait du plasma obtenu par saignée complète d'un lapin anesthésié à l'éther.

Exp. du 5-VII-60
Nous avons estimé que la moitié de l'éluat (dans SO_4H_2 0,125 N), non traité par l'acétone alcool, concentré jusqu'à 0,2 ml et neutralisé, représentait 0,075 µg d'adr., ceci en négligeant la légère hypotention donnée par l'éluat et due sans doute à quelque substance étrangère.
L'injection de tolazoline (1 mg/kg + 2 mg/kg) — entre 3 et 4 — nous a permis de constater qu'il s'agissait d'adrénaline. En effet, après cet adrénalinoverseur, à la fois l'éluat et l'adrénaline ont leurs effets inversés alors qu'il n'en est pas de même pour la noradrénaline.
0,2 ml El (totalité) → 1/2 volume plasma prélevé → 0,15 µg adr.
Résultats fluorimétriques pour la même quantité → 0,18 µg adr.

Teneur en adrénaline du plasma au cours de perfusions intraveineuses continues de l'hormone après action des adrénalinoverseurs

Date	Poids	Teneur en adrénaline du plasma au cours de perfusions de 5 µg/kg·mn (en µg par 25 ml de plasma)										
		I avant perfusion	II 1 à 2 mn après		III 15 mn après		Adrénolytique injecté : phénoxybenzamine	IV avant perfusion	V 1 à 2 mn après		VI 15 mn après	
			Fluor.	Biol.	Fluor.	Biol.			Fluor.	Biol.	Fluor.	Biol.
3-VII-59	25	0,07	2,2	2,2	3,6	1,7	2 mg/kg	0,23	4,4	4,4	4,8	4,8
8-VII-59	15	0,067	1,4	x	2	x	5 mg/kg	0,07	2,6	2,6	2,5	2,3

Effets des sensibilisateurs de l'adrénaline sur la teneur en hormone du plasma au cours de perfusions intraveineuses continues

Date	Poids du chien en kg	Teneur en adrénaline du plasma au cours de perfusions i. v. (5µg/kg·mn) (en µg par 25 ml de plasma)								
		2 mn après		15 mn après		Sensibilisateur injecté	2 mn après		15 mn après	
		Fluor.	Biol.	Fluor.	Biol.		Fluor.	Biol.	Fluor.	Biol.
22-XII-59	23	0,94	x	1,6	x	cocaïne i. m. 1 mg/kg	2	1,6	3,9	3,6
17-II-60	18	2,4	2	3,5	x	»	2,4	2,5	4,3	4,3
28-I-60	20	1,7	1,1	4,1	2,15	éphédrine i.v. 1 mg/kg	4,6	3,5	11,5	6,6
11-II-60	23	1,25	x	1,9	x	»	1,5	1,7	3,75	3,75

Effets des sensibilisateurs de la noradrénaline sur la teneur en hormone du plasma au cours de perfusions intraveineuses continues

Date	Poids du chien en kg	Teneur en noradrénaline du plasma au cours de perfusions i. v. (5µg/kg·mn) (en µg par 25 ml de plasma)								
		2 mn après		15 mn après		Substance injectée	2 mn après		15 mn après	
		Fluor.	Biol.	Fluor.	Biol.		Fluor.	Biol.	Fluor.	Biol.
25-I-60	22	1,2	2	2,9	3	0	2,5	2,5	4	4
9-VI-60						marsilid la veille au soir	1,75	1	3	2
1-VI-61						S.K.F. 385 B	0,75	1	1	1

V. — CONCLUSION

Dans la généralité des cas, les résultats biologiques et les résultats fluorimétriques sont très voisins.

Cependant, il arrive que les quantités trouvées par dosage biologique sont différentes; elles représentent parfois (dans 25 pour cent des cas) la moitié de celles trouvées par fluorimétrie. Il arrive aussi qu'elles soient supérieures. Les éluats acétiques obtenus à partir des échantillons de plasma conviennent assez mal aux déterminations sur l'animal comme nous l'avons déjà signalé.

Il se peut aussi que ces éluats de plasma renferment une ou plusieurs autres substances entraînées au cours des procédés d'extraction, lesquelles diminuent partiellement l'effet hypertenseur des amines pressives présentes. C'est ainsi que parfois des volumes croissants d'éluat n'entraînent pas des hypertensions proportionnelles et ceci pourrait peut-être expliquer les différences observées parfois entre les résultats biologiques et fluorimétriques.

Comme exemple citons les résultats obtenus au cours des expériences de perfusion pratiquées sur le chien après exclusion du foie de la circulation. Si avec l'éluat dilué de plasma prélevé au bout de 3 minutes de perfusion il y a identité entre les résultats des deux méthodes, après 15 minutes de perfusion, les résultats biologiques ont été plus faibles dans deux cas sur cinq. Peut-être apparaît-il alors quelque métabolite gênant l'appréciation biologique.

Dans quelques expériences faites sur le lapin nous avons utilisé la méthode de Euler-Orwen modifiée par Fugazza. On pratique l'élution des aminoalcools diphénoliques du plasma par de l'acide sulfurique 0,25 N et 0,125 N au lieu d'acide acétique. On injecte ces éluats, concentrés à quelques dixièmes de centimètre cube, neutralisés ou non, après purification par l'acétone-alcool.

Les résultats biologiques obtenus sur les éluats purifiés sont alors très voisins ou légèrement supérieurs à ceux obtenus par fluorimétrie.

Nous n'avons cependant pas utilisé suffisamment cette méthode pour pouvoir la comparer avec certitude à la méthode précédente.

En conclusion, les déterminations faites sur le plasma par la méthode fluorimétrique trihydroxyindole, compte tenu des modifications qui y ont été apportées, ont été confirmées dans la majorité des cas, ceci justifie l'utilisation de cette technique pour les mesures de pratique courante; nous avons vu quelques possibilités d'application notamment à la recherche des hormones surrénaliennes introduites dans l'organisme. La grande sensibilité pour l'adrénaline rend la méthode fluorimétrique précieuse dans les cas de très faible adrénalinémie et, bien que moins sensible en ce qui concerne la noradrénaline, elle n'en reste pas moins très satisfaisante pour le dosage de cette dernière. Elle serait susceptible de ce point de vue de rendre service à la clinique.

BIBLIOGRAPHIE

[1] J. Armin et R. T. Grant. — *J. Physiol., G. B.*, 1955, **128**, 511-540.

[2] M. D. Armstrong et A. Mc Millan. — *Féd. Proc.*, 1957, **16**, 146.

[3] M. D. Armstrong et A. Mc Millan. — *Pharmacol. Rev.*, 1959, **11**, 394.

[4] M. D. Armstrong, A. Mc Millan. et K.N.F. Shaw. — *Biochim. biophys. Acta*, 1957, **25**, 422-423.

[5] L. Aronow, F. A. Howard et D. Wolff. — *Amer. Soc. for pharmacol. and experim. Therap.*, 1955, 6-8 (cité dans *J. Pharmacol. exper. Therap.*, 1956, **116**, 1).

[6] J. Axelrod. — *Science*, 1957, **126**, 400-401.

[7] J. Axelord, J. K. Inscoe, S. Senoh et B. Witkop. — *Biochim. biophys. Acta*, 1958, **27**, 210-211.

[8] J. Axelrod et R. Tomchick. — *J. biol. Chem.*, 1958, **233**, 702-705.

[9] J. Axelrod H. Weil-Malherbe et R. Tomchick. — *J. Pharmacol. exper. Therap.*, 1959, **127**, 251-256.

[10] Z. M. Bacq. — *Mem. Acad. r. Med.*, 1936, **25**, 1-61.

[11] Z. M. Bacq et P. Fischer. — *C. R. Soc. Biol.*, 1949, **143**, 554-555.

[12] Z. M. Bacq, P. Fischer et J. Lecomte. — *Arch. intern. Physiol. Biochim.*, 1949, **56**, 380.

[13] W. A. Bain, W. E. Gaunt et S. F. Suffolk. — *J. Physiol. G. B.*, 1937, **91**, 233-253.

[14] A. Baïsset, Y. Laporte et P. Montastruc. — *Thérapie*, 1959, **XIV**, 1053-1067.

[15] G. S. Barsoum et J. H. Gaddum. — *J. Physiol. G.B.*, 1935, **85**, 1-4.

[16] A. Baudouin, H. Bénard, J. Lewin et J. Sallet. — *C. R. Soc. Biol.*, 1935, **119**, 73-76.

[17] C. Beaudet. — *Experientia*, 1951, **7**, 291-293.

[18] A. Beauvillain et J. Sarradin. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1948, **30**, 478-488.

[19] E. A. Bedford. — *Amer. J. Physiol.*, 1917, **43**, 235-257.

[20] S. Bergström et G. Hansson. — *Acta physiol. scand.*, 1951, **22**, 87-92.

[21] J. A. Bevan. — *J. Pharmacol. exp. Therap.*, 1960, **129**, 417.

[22] H. Blaschko. — *Pharmacol. Rev.*, 1954, **6**, 23-28.

[23] W. R. Brewster jr., J. P. Bunker et H. K. Beecher. — *Amer. J. Physiol.*, 1952, **171**, 37-47.

[24] E. Bülbring. — *Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy,* 1949, **4,** 234-244.
[25] E. Bülbring et J. H. Burn. — *Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy,* 1949, **4,** 202-208.
[26] E. Bülbring et J. H. Burn. — *Brit. J. Pharmacol., Chemotherapy,* 1949, **4,** 245-247.
[27] J. H. Burn, D. E. Hutcheon et R. H. O. Parker. — *Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy,* 1950, **5,** 142-146.
[28] J. H. Burn et M. J. Rand. — *Brit. Med. J.,* 1959, **1,** 394-397.
[29] W. B. Cannon. — *Amer. J. Physiol.,* 1931, **98,** 447-453.
[30] W. B. Cannon et Z. M. Bacq. — *Amer. J. Physiol.,* 1931, **96,** 392-412.
[31] W. B. Cannon et A. Rosenblueth. — *Amer. J. Physiol.,* 1933, **104,** 557-574.
[32] P. Chaix, J. Chauvet et J. Jezequel. — *Biochim. biophys .Acta,* 1950 A, **4,** 471-483.
[33] P. Chaix, G. A. Morin et J. Jezequel. — *Biochim. biophys. Acta,* 1950 B, **5,** 472-488.
[34] P. Chaix et C. Pallaget. — *Biochim. biophys. Acta,* 1953, **10,** 462-470.
[35] J. F. Cier et L. Peyrin. — *J. Physiol.,* 1960, **52,** 52-53.
[36] J. F. Cier et L. Peyrin. — *C. R. Soc. Biol.,* 1960, **154,** 634-641.
[37] G. Cohen et M. Goldenberg. — *J. Neurochem.,* 1957, **2,** 58-70.
[38] G. Cohen et M. Goldenberg. — *J. Neurochem.,* 1957, **2,** 71-80.
[39] S. J. Corne et J. D. P. Graham. — *J. Physiol.,* 1957, **135,** 339-349.
[40] T. B. B. Crawford et A. S. Outschoorn. — *Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy,* 1951, **6,** 8-20.
[41] J. Delga et R. Hazard. — *Arch. internation. Pharmacodyn. Therap.,* 1958, **117,** 88-99.
[42] J. Dörner et C. R. Swaine. — *J. Pharmacol. exper. Therap.,* 1956, **116,** 18.
[43] B. Drevon et M. Stupfel. — *C. R. Soc. Biol.,* 1949, **143,** 271-273.
[44] I. Ehrlen. — *Farm. Revy,* 1948, **47,** 242-250.
[45] T. R. Elliot. — *J. Physiol.,* 1905, **32,** 401-467.
[46] F. Elmadjian, J. M. Hope et E. T. Lamson. — *J. clin. Endocrinol. Metabol.,* 1957, **17,** 608-620.
[47] P. C. Elmes et A. A. Jefferson. — *J. Physiol.,* 1942, **101,** 355-361.
[48] U. S. von Euler. — *Pharmacol. Rev.,* 1954, **6,** 15-22.
[49] U. S. von Euler. — *Ciba Found. Colloquia Endocrin.,* 1957, **11,** 379-391.
[50] U. S. von Euler et I. Floding. — *Acta physiol. scand.,* 1955, **33,** *Suppl.* **118,** 45-56.
[51] U. S. von Euler and U. Hamberg. — *Acta physiol. scand.,* 1949, **19,** 74-84.
[52] U. S. von Euler et F. Lishajko. — *Acta physiol. scand.,* 1959, **45,** 122-132.
[53] U. S. von Euler et I. Orwen. — *Acta physiol. scand.,* 1955, **33,** *Suppl.* **118,** 1-9.
[54] U. S. von Euler et A. Purkhold. — *Acta physiol. scand.,* 1951, **24,** 212-217.
[55] M. G. Filbert et J. M. Weller. — *Proc. Soc. exper. Biol. Med.,* 1959, **101,** 294-297.
[56] P. Fischer. — *Bull. Soc. Chim. Belge,* 1949, **58,** 205-209.
[57] P. Fischer et Z. M. Bacq. — *C. R. Soc. Biol.,* 1949, **143,** 1159-1161.
[58] P. Fischer, G. Derouaux, H. Lambot et J. Lecomte. — *Bull. Soc. Chim. Belge,* 1950, **59,** 72-82.
[59] P. Fischer et J. Lecomte. — *Bull. Soc. Chim. biol.,* 1951, **33,** 569-600.
[60] B. V. Franko, A. D. Bragg et D. T. Watts. — *Arch. internation. Pharmacodyn. Thérap.,* 1957, **111,** 123-133.
[61] D. G. Friend, M. S. Zileli, J. T. Hamlin et F. W. Reutter. — *J. clin. exper. psychopathol.,* 1958, **19,** *Suppl.* **1,** 61-68.
[62] J. Fugazza. — *C. R. Soc. Biol.,* 1960, **154,** 90-93.
[63] R. F. Furchgott. — *Pharmacol. Rev.,* 1955, **7,** 183-265.
[64] R. F. Furchgott et S. Bhadrakom. — *J. Pharmacol. exper. Therap.,* 1953, **108,** 129-143.
[65] J. H. Gaddum et F. Lembeck. — *Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy,* 1949, **4,** 401-408.
[66] J. H. Gaddum et H. Schild. — *J. Physiol.,* 1934, **80,** 9 P-10 P.
[67] D. Gautheron et P. Chaix. — *Biochim. biophys. Acta,* 1954, **13,** 299-300.
[68] M. Gedroyc et W. Koskowski. — *C. R. Soc. Biol.,* 1930, **105,** 409-412.
[69] M. Goldenberg, I. Serlin, T. Edwards et M. M. Rapport. — *Amer. J. Med.,* 1954, **16,** 310-327.
[70] M. Goldstein, A. J. Friedhoff et G. Sandler. — *Experientia,* 1960, **16,** 211.
[71] M. Mc Goodall, N. Kirshner et L. Rosen. — *J. clin. Invest.,* 1959, **38,** 707-714.
[72] D. E. Green et D. Richter. — *Biochem. J.,* 1937, **31,** 596-616.
[73] W. Hamelberg, J. Sprouse, J. E. Mahaffey et J. A. Richardson. — *J. amer. med. Ass.,* 1960, **172,** 1596-1598.
[74] W. G. Hammond, L. Aronow et F. D. Moore. — *Ann. Surg.,* 1956, **144,** 715-732.
[75] J. Harley-Mason. — *Experientia,* 1948, **4,** 307, 308.
[76] J. Harley-Mason. — *J. chem. Soc.,* 1950, 1276-1282.
[77] R. Hazard. — *J. de Pharm. et de Chim.,* 1934, **19,** 445-466.
[78] R. Hazard, M. Beauvallet, J. Delga, J. Hazard, S. Larno et P. Mouille. — *C. R. Soc. Biol.,* 1958, **152,** 1683-1685.
[79] R. Hazard, M. Beauvallet, J. Delga, J. Hazard, S. Larno et P. Mouille. — *C. R. Soc. Biol.,* 1959, **153,** 946-948.
[80] R. Hazard, M. Beauvallet, J. Fugazza et M. Solier. — *C. R. Soc. Biol.,* 1959, **153,** 944-945.
[81] R. Hazard, M. Beauvallet, J. Hazard, S. Larno et P. Mouille. — *C. R. Soc. Biol.,* 1959, **153,** 1942-1944.
[82] R. Hazard, M. Beauvallet, J. Hazard, S. Larno et P. Mouille. — *J. Physiol.,* 1960, **52,** 115-116.
[83] R. Hazard, M. Beauvallet, J. Hazard et P. Mouille. — *J. Physiol.,* 1959, **51,** 53-64.
[84] R. Hazard, M. Beauvallet, J. Hazard, P. Mouille et M. Solier. — *C. R. Soc. Biol.,* 1960, **154,** 1366-1369.
[85] R. Hazard, M. Beauvallet, E. C. Savini et S. Larno. — *Biochem. Pharmacol.,* 1961, **8,** n° 1, 213*a*.
[86] J. H. Heller, R. B. Setlow et E. Mylon. — *Amer. J. Physiol.,* 1950, **161,** 268-277.
[87] H. Hermann, M. Berger, J. F. Cier et L. Peyrin. — *C. R. Soc. Biol.,* 1959, **153,** 92-95.

[88] H. Hermann, J. Chatonnet et J. Vial. — *Arch. internation. Pharmacodyn. Therap.*, 1958, **117**, 203-219.
[89] H. Hermann, F. Jourdan, G. Morin et J. Vial. — *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **131**, 282-284.
[90] H. Hermann, G. Morin et J. Vial. — *C. R. Acad. Sci.*, 1934, **199**, 487-489.
[91] H. Hermann, G. Morin et J. Vial. — *C. R. Soc. Biol.*, 1936, **122**, 1099-1101.
[92] H. Hermann, J. Vial et J. Chatonnet. — *C. R. Soc. Biol.*, 1951, **145**, 1550-1553.
[93] P. Holtz et R. Credner. — *Arch. exper. Pathol.*, 1942, **200**, 356-388.
[94] W. A. Hunzinger, G. Ritzel et H. Staub. — *Helv. physiol. pharmacol. Acta*, 1956, **14**, C 31 - C 33.
[95] W. A. Hunzinger, G. Ritzel et H. Staub. — *Helv. chim. Acta*, 1956, **39**, 2096-2106.
[96] D. F. Hutcheon et R. H. O. Parker. — *Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy*, 1950, **5**, 604-610.
[97] E. Iisalo. — *Acta. physiol. scand.*, 1957, **42**, *Suppl.*, **145**, 75.
[98] P. G. de Jalon, J. B. Bayo et M. G. de Jalon. — *Farmacoter. act.*, 1945, **2**, 313-318.
[99] R. T. Jones et W. O. Blake. — *J. appl. Physiol.*, 1958, **12**, 448-452.
[100] R. T. Jones et W. D. Blake. — *Amer. J. Physiol.*, 1958, **193**, 365-370.
[101] K. S. Jørgensen. — *Acta pharmacol. toxicol.*, 1945, **1**, 225.
[102] K. Kamijo, G. B. Koelle et H. H. Wagner. — *J. Pharmacol. exper. Therap.*, 1956, **117**, 213-227.
[103] H. Kaufmann et E. Koch. — *Presse Méd.*, 1959, **67**, 1141-1144.
[104] N. Kirshner et C. Mc Goodall. — *Biochim. biophys. Acta*, 1957, **24**, 658-659.
[105] J. P. Langlois. — *C. R. Soc. Biol.*, 1897, **49**, 571.
[106] S. Larno-Vacheron. — *C. R. Soc. Biol.*, 1960, **154**, 263-265.
[107] S. Larno-Vacheron. — *C. R. Soc. Biol.*, 1960, **154**, 944-946.
[108] G. Latorre, V. Cardenas et O. Lopez. — *Arch. internation. Physiol. Biochim.*, 1960, **68**, 785-792.
[109] J. Leduc. — *Acta physiol. scand.*, 1961, **53**, *Suppl.* **183**, 1-101.
[110] M. F. Lockett. — *Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy*, 1950, **5**, 485-496.
[111] A. Lund. — *Acta pharmacol. toxicol.*, 1949, **5**, 75-94.
[112] A. Lund. — *Acta pharmacol. toxicol.*, 1949, **5**, 121-128.
[113] A. Lund. — *Acta pharmacol. toxicol.*, 1949, **5**, 231-247.
[114] A. Lund. — *Acta pharmacol. toxicol.*, 1950, **6**, 137-146.
[115] A. Lund. — *Acta pharmacol. toxicol.*, 1951, **7**, 309-320.
[116] A. Lund. — *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, 1952, **4**, 263-265.
[117] W. H. Mc Millan. — *Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy*, 1959, **14**, 385-391.
[118] J. Malmejac, V. Donnet et E. Desanti. — *C. R. Soc. Biol.*, 1935, **119**, 1155-1157.
[119] J. Malmejac, G. Neverre et M. Bianchi. — *C. R. Soc. Biol.*, 1956, **150**, 2202-2204.
[120] G. F. Mangan et J. W. Mason. — *Amer. J. Physiol.*, 1958, **194**, 476-480.
[121] W. M. Manger, E. J. Baldes, E. V. Flock, J. L. Bollman, J. Berkson et M. Jacobs. — *Proc. Staff Meetg Mayo Clin.*, 1953, **28**, 526-531.
[122] W. M. Manger, E. V. Flock, J. Berkson, J. L. Bollman, G. M. Roth, E. J. Baldes et M. Jacobs. — *Circulation*, 1954, **10**, 641-652.
[123] D. T. Masuoka, W. G. Clark et H. F. Schott. — *Feder. Proc.*, 1958, **17**, 105.
[124] D. T. Masuoka, H. F. Schott, R. I. Akawie et W. G. Clark. — *Proc. Soc. exper. Biol. Med.*, 1956, **93**, 5-7.
[125] P. Mazars. — Travail de l'Institut de Physiologie de la Fac. Méd. Lyon 1955, imprimerie E. Vitte.
[126] R. A. Millar et B. G. Benfey. — *Brit. J. Anaesth.*, 1958, **30**, 158-165.
[127] R. A. Millar, E. B. Keener et B. G. Benfey. — *Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy*, 1959, **14**, 9-13.
[128] E. Muscholl et M. Vogt. — *Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy*, 1957, **12**, 532-535.
[129] G. G. Nahas. — *C. R. Acad. Sci.*, 1959, **248**, 294-297.
[130] S. Natelson, J. K. Lugovoy et J. B. Pincus. — *Arch. Biochem. Biophys.*, 1949, **23**, 157-158.
[131] M. Paget. — *Bull. Sci. pharm.*, 1930, **37**, 537-538.
[132] M. Paget et C. P. Leblond. — *J. Pharm. Chim.*, 1930, **12**, 531.
[133] A. Pekkarinen. — *Pharmacol. Rev.*, 1954, **6**, 35-37.
[134] A. Pekkarinen et M. E. Pitkänen. — *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, 1955, **7**, 1-7.
[135] A. Pekkarinen et M. E. Pitkänen. — *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, 1955, **7**, 8-14.
[136] L. Peyrin et J. F. Cier. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1961, **43**, 239-251.
[137] J. O. Pinkston, C. M. Greer, E. S. Brannon et J. H. Baxter. — *J. Pharmacol. exper. Therap.*, 1937, **60**, 115-116.
[138] A. Pletscher. — *Thérapie*, 1960, **15**, 839-844.
[139] A. Pletscher et A. Bernstein. — *Nature*, 1958, **181**, 1133-1134.
[140] T. R. Poole et O. T. Watts. — *Amer. J. Physiol.*, 1959, **196**, 145-148.
[141] B. von Porat. — *Acta med. scand.*, 1946, **123**, 317-339.
[142] H. L. Price et M. L. Price. — *J. Lab. clin. Med.*, 1957, **50**, 769-777.
[143] C. E. Rapela et B. A. Houssay. — *Rev. Soc. Argent. Biol.*, 1952, **66**, 328.
[144] J. A. Richardson, A. K. Richardson, E. F. Woods, et O. J. Brodie. — *Amer. Soc. pharmacol. exper. Therap.*, 1955, **6-8**, 49 (cité dans *J. Pharmacol. exper. Therap.*, 1956, **116**, 49.
[145] J. A. Richardson et E. F. Woods. — *Feder. Proc.*, 1956, **15**, 473-474.
[146] J. A. Richardson, E. F. Woods et A. K. Richardson. — *J. Pharmacol. exper. Therap.*, 1957, **119**, 378-384.
[147] S. Roston. — *Analyt. Chem.*, 1958, **30**, 1363.
[148] Y. Satake. — Nanzando Co Ltd 1955 Hongo, Tokyo, Japan.
[149] H. Sato. — *Tôhoku J. exptl. Med.*, 1930, **16**, 597-614.
[150] E. C. Savini. — *Arch. internation. Pharmacodyn. Thérap.*, 1957, **113**, 157-159.
[151] A. F. de Schaepdryver. — *Arch. internation. Pharmacodyn. Thérap.*, 1958, **115**, 233-245.

[152] A. F. de Schaepdryver. — *Arch. internation. Pharmacodyn. Thérap.*, 1958, **117**, 475-484.
[153] A. F. de Schaepdryver et N. Kirshner. — *Science*, 1961, **133**, 586-587.
[154] F. H. Shaw. — *Biochem. J.*, 1938, **32**, 19-25.
[155] R. E. Shipley et J. H. Tilden. — *Proc. Soc. exper. Biol. Med.*, 1947, **64**, 453-455.
[156] P. A. Shore et J. S. Olin. — *J. Pharmacol. exper. Therap.*, 1958, **122**, 295-300.
[157] M. Stupfel et J. Roffi. — *C. R. Soc. Biol.*, 1960, **154**, 1387-1390.
[158] T. Suzuki, K. Satto et Y. Kobayasi. — *Tôhoku J. exper. Med.*, 1951, **54**, 261-267.
[159] T. Szilagyi, I. Szatai et B. Csaba. — *Acta physiol. Acad. Sci. Hungar.*, 1959, **15**, 75.
[160] J. N. Taylor. — *Amer. J. Physiol.*, 1958, **195**, 663-669.
[161] S. M. Tenney. — *Amer. J. Physiol.*, 1956, **187**, 341-346.
[162] M. Tiffeneau et H. Scheiner. — *Bull. Acad. Med.*, 1938, **120**, 15-23.
[163] M. Tiffeneau et H. Scheiner. — *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **131**, 411-415.
[164] A. Tournade et H. Hermann. — *C. R. Soc. Biol.*, 1928, **98**, 306-308.
[165] P. Trendelenburg. — *Z. Biol.*, 1912, **57**, 90-103.
[166] U. Trendelenburg. — *J. Pharmacol. exper. Therap.*, 1959, **125**, 55-65.
[167] A. M. Utevski. — *Adv. mod. Biol.*, Moscow, 1944, **18**, 145 (cité dans *Chem. Abstr.*, 1945, **39**, 1676).
[168] A. de T. Valk et H. L. Price. — *J. Clin. Invest.*, 1956, **35**, 837-841.
[169] P. Varène. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1957, **39**, 1473-1482.
[170] A. Vendsalu. — *Acta physiol. scand.*, 1960, **49**, *Suppl.* **173**, 1-123.
[171] M. Vogt. — *Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy*, 1952, **7**, 325-330.
[172] R. P. Walton, J. A. Richardson, R. P. Walton et W. L. Thompson. — *Amer. J. Physiol.*, 1959, **197**, 223-230.
[173] W. F. Walker, M. S. Zileli, F. W. Reutter, W. C. Shoemaker et F. D. Moore. — *Amer. J. Physiol.*, 1959, **197**, 765-772.
[174] W. F. Walker, M. S. Zileli, F. W. Reutter, W. C. Shoemaker, D. Friend et F. D. Moore. — *Amer. J. Physiol.*, 1959, **197**, 773-780.
[175] D. T. Watts. — *J. Pharmacol. exper. Therap.*, 1955, **114**, 203-210.
[176] D. T. Watts. — *Amer. J. Physiol.*, 1956, **184**, 271-274.
[177] D. T. Watts et C. J. Greever. — *Amer. Soc. pharmacol. exper. Therap.*, 1955, **6-8**, 60 (cité dans *J. Pharmacol. exper. Therap.*, 1956, **116**, 60.
[178] D. T. Watts et T. R. Poole. — *Feder. Proc.*, 1957, **16**, 344.
[179] H. Weil-Malherbe. — *J. ment. Sci.*, 1955, **101**, 156-162.
[180] H. Weil-Malherbe, J. Axelrod et R. Tomchick. *Science*, 1959, **129**, 1226.
[181] H. Weil-Malherbe et A. D. Bone. — *Biochem. J.*, 1952, **51**, 311-318.
[182] H. Weil-Malherbe et A. D. Bone. — *Lancet*, 1953, **264**, 974-977.
[183] H. Weil-Malherbe et A. D. Bone. — *Biochem. J.*, 1954, **58**, 132-141.
[184] H. Weil-Malherbe et A. D. Bone. — *Nature*, 1954, **174**, 557-558.
[185] H. Weil-Malherbe et A. D. Bone. — *Biochem. J.*, 1957, **67**, 65-72.
[186] H. Weil-Malherbe et A. D. Bone. — *Biochem. J.*, 1958, **70**, 14-22.
[187] H. Weil-Malherbe et A. D. Bone. — *Science*, 1958, **127**, 1188.
[188] G. B. West. — *Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy*, 1947, **2**, 121-130.
[189] G. B. West. — *J. Physiol.*, 1947, **106**, 426-430.
[190] G. B. West. — *J. Physiol.*, 1951, **112**, 39 P.
[191] L. G. Whitby, J. Axelrod et H. Weil-Malherbe. — *J. Pharmacol. exper. Therap.*, 1961, **132**, 193-201.
[192] J. C. Whitehorn. — *J. biol. Chem.*, 1935, **108**, 633-643.
[193] A. W. R. Williamson et F. D. Moore. — *Amer. J. Physiol.*, 1960, **198**, 1157-1160.
[194] M. Wurzel, T. Pruss, W. Weiss et G. D. Maengwyn-Davies. — *Proc. Soc. exper. Biol. Med.*, 1960, **105**, 659-661.

DEUXIEME THESE

Propositions données par la Faculté

Intervention des deux hormones adrénaline et noradrénaline dans les processus d'adaptation au froid

---

Vu et approuvé :

Paris, le 3 juin 1962

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Marc ZAMANSKY

Vu

et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Jean ROCHE

IMP. LOUIS-JEAN – GAP
Dépôt légal no 228 – 1963